БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
имени ПАСТЕРА
ЛЕНИНГРАДСКОГО ОБЛЗДРАВОТДЕЛА

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ПОД РЕДАКЦИЕЙ
А. М. Безредка, О. О. Гартоха, Акад. Д. К. Заболотного, П. В. Лебединского, Я. Ю. Либермана, П. П. Маслаковца и Акад. Г. А. Надсона

ТОМ XI 1930 ВЫП. 1

ЛЕНИНГРАД

Ленинградский Облиздат № 68871. Тираж 800—8 л. Заказ № 2019.

Государственная типография имени Евгении Соколовой, Ленинград, проспект Красных Командиров, 29

ОГЛАВЛЕНИЕ

Оригинальные статьи.

Стр.

Памяти **С. С. Мережковского** 1

Н. Н. Андреев и **А. С. Раевский.** — Опыт применения определения светорассеяния с помощью фотоэлемента для изучения дифтерийных токсинов 3

Н. Н. Андреев и **М. А. Линникова.** — Опыт применения определения светорассеяния с помощью фотоэлемента в туберкулинах в целях штандартизации 5

Л. М. Горовиц-Власова и **Г. С. Филиппов.** — О роли бактерий в спичечном производстве 6

М. А. Зеликина и **А. М. Беньяш.** — Некоторые данные о механизме феномена *Castellani* 12

Н. Кадлец. — К вопросу о рационализации методики пипетирования при бактериологических и серологических исследованиях 22

С. С. Казарновская, М. И. Каневская, М. А. Зеликина и **Е. Т. Павлова.** — Вариабильность некоторых представителей кишечной группы 26

Л. Л. Кандыба и **И. Я. Садовский.** — О вакцинации против мыта 46

Р. Пригге и **О. Гартох.** — Исследования по определению титра противодизентерийной сыворотки при помощи высоковалентного токсина *Shiga-Kruse* 55

М. Рапопорт, А. Дауман и **А. Вайнтрауб.** — К казуистике маннит — несбраживающей дизентерийной группы 81

Б. Ф. Фурсенко. — Морфологические изменения в микробах и их культурах при бактериофагии 96

Н. Г. Щербина. — Пептоны и их значение при массовом изготовлении вакцин 102

TABLES DES MATIÈRES.

ARTICLES ORIGINAUX.

(Résumés).

Pages.

N. Andreyev et **D. Raycvski**. — Application de la cellule photo-électrique à la standartisation des toxines diphtériques 110

N. Andreyev et **M. Linnikova.** — Application de la cellule photo-électrique à la standartisation des tuberculines 110

L. M. Horowitz-Wlassowa u. G. S. Philipow. — Ueber die Rolle der Mikroorganismen in der Zündholzindustrie 110

M. A. Zelikina u. **A. M. Benjasch.** — Einiges über den Mechanismus des Phänomens *Castellani* 111

Sophie Kasarnowsky, M. J. Kanjewsky, M. A. Zelikina u. **E. T. Pawlowa.** Ueber Variabilität mancher Vertreter der Coligruppe 112

L. L. Kandiba und **I. J. Sadowsky.** — Ueber Schutzimfung gegen die Pferdedruse 113

M. Rapoport, A. Daumann und **A. Weintraub.** — Ein Beitrag zur Kenntnis der Mannit nicht vergährenden Dysentheriestäbchen 113

B. Foursenko. — Sur les modifications morphologiques des microbes et de leurs cultures sous l'influence de la bactériophagie 115

N. G. Stscherbina. — Peptone und deren Bedeutung bei Massenvorbereitung von Vakzinen 116

ПАМЯТИ С. С. МЕРЕЖКОВСКОГО

10-го Апреля от кровоизлияния в мозг скончался Сергей Сергеевич Мережковский (1863—1930). Он окончил Военно-Медицинскую Академию в 1893 г. и весь рабочий период своей жизни провел в учреждениях сначала Министерства Земледелия, а затем Наркомзема, занимаясь научными исследованиями в Сельско-Хоз. бакт. Лаборатории, отделе бактер. Сельско-Хоз. Уч. Комитета и Гос. Инст. Опытной Агрономии. Сергей Сергеевич в соответствующих кругах известен, как научно-практический деятель в деле применения бактериологического метода в борьбе с вредителями сельского хозяйства. Для изучения вопросов, связанных с этой темой он вел постоянную и неутомимую работу в своих лабораториях, а также неоднократно командировался на места эпидемий, как в России, так и заграницей (командировка в Бессарабскую губернию с целью выяснения пригодности бактериального метода для борьбы с сусликами и в Алжир в Инст. Pasteur'a для изучения бактериального метода в борьбе с саранчей).

Его многочисленные работы почти все за небольшими исключениями (работа о роли микроорганизмов в кишечнике) касаются вышеуказанной темы — бактериального метода борьбы с вредителями; в них он с редкой настойчивостью и неутомимостью разрабатывает различные детали этого большого и сложного вопроса. Тут же надлежит упомянуть, что покойным С. С. Мережковским был открыт названный его именем губительный для сусликов микроб, позднее им предложенный для цели практического мышеистребления, получивший распространение и изучавшийся не только у нас, но и за пределами нашей страны (Япония). Далее им же была предложена питательная среда, которой был заполнен пробел в бактериологическом обиходе — среда, на которой возможно в течение весьма длительного времени поддер-

живать вирулентность для крыс *B. Danysz*'а, а также и некоторых других микробов.

Для доказательства отсутствия ослабления вирулентности у *B. Danysz*'а при росте на этой среде С. С. Мережковским была проделана длительная работа, нашедшая себе выражение в ряде научных трудов, опубликованных в 1911, 1912 и 1914 годах. Некоторые из этих работ должны быть признаны исключительными, как по методике в них разработанной, так и по доказательности выводов. Это обстоятельство общепризнано не только у нас, но и за границей. Его работой о *Cocco bacillus acridorium* так же внесена ясность в вопрос о том, что такое представляет собой эта бацилла. Возможно, что, благодаря этой работе, было предупреждено недостаточно обоснованное расходование государственных средств.

Помимо научно-практической и консультантской деятельности при Облздраве и других учреждениях С. С. Мережковский одно время был нечужд и деятельности педагогической, когда он занимал место ассистента при проф. Варлихе. В числе учеников С. С. Мережковского того времени встречаются имена лиц, ставших профессорами и крупными учеными. Так проф. Н. Н. Аничков свою первую работу о термофильных бактериях написал под руководством С. С. Мережковского.

Общее количество работ С. С. Мережковского достигает 37.

Таким образом в лице покойного мы потеряли солидного ученого, которому наука обязана открытием и разработкой фактов, имеющих значительное теоретическое и большое практическое значение. Работавшие же с ним и близко его знавшие надолго сохранят о нем память как о чрезвычайно порядочном, честном человеке и хорошем товарище.

Б. Эберт.

Из Био-химического Отдела Ин-та им. Пастера. Ленинград.

Опыт применения определения светорассеяния с помощью фотоэлемента для изучения дифтерийных токсинов.

Предварительное сообщение.

Н. Н. Андреев и А. С. Раевский.

Обработка дифтерийных токсических бульонов соляной кислотой вызывает их помутнение, которое при известных концентрациях *HCl* бывает наибольшим. Эта точка высшей мутности соответствует их изоэлектрической точке. Степень мутности оказывается не одинаковой в разных токсинах и наблюдается параллелизм между ее величиной и токсичностью данного токсина.

Для выяснения, насколько этот параллелизм имеет количественный характер, были поставлены опыты сравнения количества мутности, измеряемого по светорассеянию с помощью фотоэлемента [1], и числом смертельных доз определяемым обычным путем на морских свинках.

Опыты ставились таким образом:

В ряд пробирок наливался токсин по 1 кб. с., а затем к нему прибавлялась *HCl* в разных разведениях в количестве 1 кб. см. Через 1 час появлялось наиболее сильное помутнение в одной из пробирок, по обе стороны которой до конца ряда мутность уменьшалась иногда до полного исчезновения [2].

Наиболее мутная смесь токсина с *HCl* после этого измерялась на количество мути в аппарате, построенном на указанном принципе применения фотоэлемента.

В приложенной таблице приведен результат измерений.

Как видно из таблицы между числом смертельных доз и отклонением шкалы гальванометра наблюдается полный параллелизм.

Величины, стоящие в 4-й графе, получены таким образом: суммы смертельных доз всех токсинов (2-я графа) разделены на сумму всех миллиметров отклонений гальванометра, откуда получено число смертельных доз соответствующих одному миллиметру шкалы.

---

[1] Принцип измерения описан в *Koll - Zeit.* 43, 14 (1927).

[2]) Подробно методика описана в *Bioch. — Zeit* 197, 8 (1928).

№№ токсинов.	Число смертельных доз в 1 кб. с. определенных на свинках.	Число милли метров шкалы гальванометра.	Число смертельных доз вычисленное	Расхождение числа смертельных доз опытных и вычисленных.
16	400	23	420	+ 5%
18	400	22	412	+ 3%
25	750	39	730	— 2,6%
32	800	41	780	— 2,5%
30	750	42	796	+ 6%
21	200	10	187	— 6%
19	500	26	486	— 2,8%
	3 800	203		

Умножением этой величины на число миллиметров шкалы для каждого токсина и получены величины стоящие в 4-й графе.

$$\frac{3800}{203} = 18{,}6$$ смертельных доз на 1 мм. шкалы.

Для № 16 — $23 \times 18{,}6 = 420$; для № 18 — $22 \times 18{,}6 = 412$ и т. д.

Из Биохимического Отдела Ин-та имени Пастера. Ленинград.

Опыт применения определения с помощью фотоэлемента светорассеяния в туберкулинах в целях штандартизации.

Предварительное сообщение.

Н. Н. Андреев и М. А. Линникова.

В предыдущем сообщении (Н. Н. Андреев и А. С. Раевский) показано, что можно надеяться, применяя фотоэлемент для количественного измерения мути токсинов в изоэлектрической точке, определять их силу в простых смертельных дозах.

Та же методика была применена для исследования туберкулинов в целях их штандартизации.

К сожалению здесь дело осложняется не такой надежностью биологического испытания, как в случае дифтерийного токсина.

Для исследования были взяты 4 туберкулина, приготовленные Институтом Экспериментальной Медицины. Предварительно М. А. Линниковой[1]) была на ряде туберкулинов установлена величина p_H. в изоэлектрической точке. Она колебалась между 3,83 и 4,1.

Исследуемые туберкулины приводились в изоэлектрическую точку посредством *HCl* и в образовавшихся мутных растворах измерялось с помощью фотоэлемента количество мути.

Для параллельных биологических определений силы туберкулинов была взята внутрикожная проба на козах.

Результаты получились следующие:

№№ серий туберкулин.	Величина отклонений шкалы гальванометра в миллиметрах.	Кожная реакция. Диаметр зоны около инфильтрата в сантиметрах.
1	25	2,5
2	46	3,0
3	48	4,0
4	44	3,0

Приведенные данные указывают на наличность параллелизма между величиной светорассеяния и силой туберкулина.

[1]) Архив Биологических Наук.

Из Лаборатории Госторга. Ленинград.

О роли бактерий в спичечном производстве

Л. М. Горовиц-Власова и Г. С. Филиппов

Основным моментом спичечного производства является изготовление так называемой спичечной массы для головок спичек. Главными составными частями этой пасты является бертоллетовая соль (около 50%), служащая источником кислорода, $K_2Cr_2O_7$ (около 0,8%) и мездровый клей, придающий ей нужную вязкость (около 10%), помимо того в нее входит около 1% камеди, 6% стекла, краска и пр.. Иногда эта масса подвергается своеобразной порче, характеризуемой более или менее значительным выделением газа и утратой вязкости; спичечные головки, изготовленные из такой пасты, легко осыпаются, и спички утрачивают способность зажигаться.

С целью выяснения происходящих при этом процессов, мы подвергли микробиологическому изучеиию как образцы испорченной пасты, так и органические вещества, входящие в его состав— клей и камедь—и, наконец, пробы воды, употребляемой при замачивании клея.

В общем, при исследовании 13 образцев пасты, было выделено 17 видов микроорганизмов; наиболее частыми и наиболее многочисленными представителями дрожжей и грибков (при определении последних мы пользовались компетентными указаниями академика Надсона и проф. Ячевского) являлись *Torula glutinis, Penicillium glaucum, Cephalosporium acremonium, Oospora* sp., из бактериальных же видов *B. mesentericus vulgatus, B. megaterium, B. fluorescens liquefaciens*; другие же виды, как *Sarcina lutea, Mucor plumbeus, Aspergillus versicolor* и др. были представлены в посевах лишь единичными особями, в то время как колонии *Torula glutinis B. mesentericus, Cephalosporium acr.* исчислялись сотнями и тысячами в 1 к. см., а в наиболее испорченных образцах даже миллионами.

Мездровый клей применяется в производстве в виде сухих плиток, которые замачиваются в речной воде 16—18 час при комнатной температуре; исследованию было подвергнуто 5 образцов сухого клея и готовые клеевые растворы. Растворы эти, по богатству азотосодержащими органическими веществами, являются для микроорганизмов прекрасной питательной средой (при засеве количество бактерий в течение 48 час. при 21° С достигает 4—6 миллиардов в к. с.); высевы из испорченных образцов исчислялись

десятками миллионов в к. с. Что касается качественного состава бактериальной флоры, то в списке выделенных видов фигурирует их более 40, но значительное большинство их следует считать случайными находками, обусловленными поверхностным загрязнением сухого клея, поскольку 1) находки эти были непостоянны, 2) представлены единичными особями, 3) отсутствовали в посевах после предварительного, до замачивания, обжигания поверхности клеевых плиток. Такими случайными находками можно считать большинство найденных грибков, как различные виды *Mucor*'a *Rhizopus, Aspergillus, Sterigmatocystis candida, Cladosporium sphaerospermum, Oidium lactis, Oospora, Isaria sp.*, и др.; напротив, встречавшиеся в огромных количествах (также и в обожженном клею) *B. mesentericus, B. fluorescens liquefaciens, Penicillium gl.* очевидно размножались в данном субстрате.

Исследование камеди в виде готовых, полученных с фабрик, или изготовленных в лаборатории растворов, обнаружило весьма значительное количество *B. fluorescens liquefaciens*, единичные колонии *B. mesentericus vulgatus, Torula glutinis*, а также различных плесеней как *Mucor racemosus* и *M. plumbeus, Penicillium glaucum, Dematium pullulans, Aspergillus niger, Rhizopus nigricans* и т. д.

Наконец, изучение флоры воды, употребляемой на фабрике обнаружило в ней весьма значительные количества *B. fluorescens liquefaciens* и *Torula glutinis*; помимо того в воде имелись различные плесени, как *Dematium Pinicillium gl., Rhizopus nigricans* и т. д.

На основании этих данных позволено думать, что виды, наиболее часто встречающиеся в больших количествах в пораженной пасте как *Torula glutinis, B. mesentericus vulgatus, B. fluorescens liquefaciens*, вносятся в нее уже в виде готовой культуры в испорченном клею; в самый же клей первые два вида, в виде отдельных особей, могут поступать, как из воздуха, где они обычно имеются, так и из речной воды; *B. fluorescens liquefaciens* же поступает, главным образом, из речной воды, являясь почти постоянным ее обитателем.

Виды, принадлежащие к категории наиболее частых обитателей испорченного клея и пасты, были испытаны в чистой культуре на способность вызывать в нормальном клею указанные явления. Следует прибавить, что при заражении нормального клея частицей испорченного (посев en masse), клей через 2—3 дня утрачивал свою вязкость, и в нем наблюдалось выделение газов (преимущественно H_2S и NH_3).

То же происходило при заражении нормального клея чистыми культурами *B. mesentericus, B. megaterium, B. fluorescens liquefaciens*. Напротив, *Torula glutinis*, даже при весьма обильном размножении, консистенции клея не изменяла и не обуславливала выделения газов. В общем, при испытании 15 видов клей-разжижающее действие обнаруживалось у всех испытанных видов, которые обладали протеолитическим действием (в частности разжижали желатину) и отсутствовало у видов, не обладающих этим свойством. Таким образом, следует признать, что и разжижение клея, и наблюдаемое

при этом газообразование являются результатом исключительно протеолитических и пептолитических процессов; прибавим, что ни химическими, ни биологическими пробами (засевы клея видами разлагающими углеводы с газообразованием) в клею не удается обнаружить углеводов; с другой стороны, упомянутые клееразжижающие виды дают в бродильных трубках накопление газов и в простом бульоне без прибавления углеводов, причем реактивные бумажки обнаруживают выделение HS_2 NH_3.

Опыты заражения нормальной спичечной пасты дали результаты, вполне совпадающие с предыдущими. Ввиду высокого содержания в этой пасте $KClO_3$ мы в серии предварительных опытов испытали действие насыщенных растворов этой соли на ряд выделенных из клея видов — размножение *B. mesentericus* и др. спорогенных видов в этих условиях шло вполне удовлетворительно и никаких признаков разложения $KClO_3$ бактериями (повышения в среде содержания хлоридов, появления свободного кислорода, как в аэробных, так и в анаэробных условиях) мы усмотреть не могли. Прибавим, что к таким же отрицательным результатам пришел в свое время Maassen, испытавший в этом отношении многочисленные бактериальные виды (*Arb. a. d. kaiserl. Gesundh., Bd.* 18, 1902).

При заражении нормальной спичечной пасты 24 час. культурой (т. е. содержащей еще значительное количество вегетативных форм) *B. mesentericus*, паста, уже через сутки хранения в термостате при 35°, принимает по охлаждениии до комнатной t° жидкую консистенцию; контрольная же паста, также при 35° размягчающаяся, при комнатной t° снова застывает в плотную массу — иначе говоря, наблюдаемые явления вполне аналогичны тем, которые имеют место в опытах протеолиза желатины. По мере развития этого протеолитического процесса паста утрачивает свои полезные свойства. При изготовлении спичечных головок из такой зараженной пасты, в начале описываемого процесса, получаются спички с пористой головкой, которые или совсем не зажигаются или дают медленную, неравномерную, быстро потухающую вспышку сопровождающуюся шипением и растрескиванием головки; при более длительном воздействии *B. mesentericus*'а и, стало быть, более резко выраженном разжижении массы, она становится совершенно непригодной для изготовления спичечных головок, которые совершенно утрачивают способность вспыхивать, поскольку масса на соломке не удерживается.

Аналогичные, хотя и слабее выраженные результаты, дали близко стоящие к *B. mesentericus* виды *B. megaterium* и *B. mycoides*; другие же, как *Torula glutinis, B. fluorescens liquefaciens, Sarcina lutea* и многочисленные грибки из вышеупомянутых, стойкого разжижения пасты в течение 4 дневного наблюдения не дали; некоторые из этих видов, хорошо размножавшиеся в клею, как *B. fluorescens liquefaciens* в пасте в течение этого срока отмирали.

Облигатных анаэробов как в клею, так и в пасте при повторных высевах обнаружено не было.

Из вышеприведенных данных видно, что главными возбудителями описываемой порчи спичек, т. е. клея и заготовленной на нем

спичечной массы, являлись *B. mesentericus vulgatus* и родственные ему виды *B. megaterium*, *B. mycoides* т. е. спорогенные виды, отличающиеся своей стойкостью, более или менее резко выраженным протеолетическим действием и широким распространением в внешнем мире.

Так как разжижение клея есть процесс необратимый, то, очевидно, борьба с изучаемым видом порчи спичек должна иметь характер предупредительный — другими словами, как приготовление сухого клея, так и замачиванне его перед приготовлением спичечной массы должно протекать в условиях, исключающих возможность интенсивного развития в нем бактериальной жизни. Нельзя не указать здесь аналогии с приготовлением сухого яичного альбумина, который своевременная техника получает почти стерильным, при дефектах же производства в препарате насчитываются миллионы бактерий в 1 гр., как нам приходилось наблюдать это лично. Достичь бактериальной чистоты препарата можно двояким путем: 1) строгим соблюдением чистоты в производстве — применением чистой воды, чистого производственного инвентаря, санитарной охраной воздуха помещения, и т. д., при возможном сокращении сроков как сушки, так и замачивания клея; 2) поскольку в данном случае дело не идет о пищевом продукте — прибавлением к клею различных дезинфецирующих веществ, препятствующих размножению отдельных, попавших в него особей.

Нами были испытаны для этой цели разнообразные *antiseptica*, как фенол, хлорная известь и миамин (патентованный препарат типа хлорамина),соли тяжелых металлов, как сернокислый цинк, анилиновые краски, как кристаллвиолет.

Фенол для данной цели оказался совершенно непригодным, хотя прибавления его в отношении 0,5% к спичечной массе, зараженной *B. mesentericus'ом*, было достаточно, чтобы стерилизовать ее — непригодность его обусловлена тем, что прибавление к спичечной массе даже ничтожных количеств его, как 0,00005% гидролизирует коллоиды клея, т. е. переводит последний в жидкое состояние. Равным образом непригодна поваренная соль, которая, хотя и подавляет в высоких концентрациях рост бактерий, но, высаливая коллоиды, понижает вязкость. Хлорная известь была испытана в дозах от 2% до 0,0001%, прибавляемых к раствору зараженного клея; при этом оказалось, что при дозах не ниже 0,5%, высевы (1 *к.с*) через 2 и даже 10 суток роста не обнаружили, при дозах 0,25% и 1% получились единичные колонии; дозы 0,05% понижают, по сравнению с контролями, рост лишь в незначительной степени; дозы же 0,005% никакого видимого эффекта не обнаруживают. Прибавим, что при более длительном (8—10 дневном) сроке опытов наблюдается то же явление, которое известно при хлорировании воды, а именно — вторичное, наступающее после исчезновения свободного хлора, размножение уцелевших особей, но для нужд производства это явление практического значения не имеет.

Мианин, при прибавлении к спичечной массе, зараженной *B. mesentericus'ом*, уже при концентрации 0,05% подавлял его рост и предотвращал разжижение массы; при более низких концентра-

циях задержка роста лишь частичная, и слабое разжижение массы все же наблюдается; дрожжи и грибки оказываются более устойчивыми, нежели бактерии. Спички, приготовленные из зараженной и затем обработанной мианином пасты, ничем от контрольных, изготовленных на нормальной пасте, не отличались и дают 100% зажигаемости.

В опытах с клеем мианин давал столь же удовлетворительные результаты, иногда даже при концентрации 0,01%, хотя в контролях высевы обнаруживали через сутки десятки тысяч, а при дальнейшем наблюдении через 12 дней даже несколько миллиардов особей в 1 *к.с.* клея.

Сернокислый цинк дал результаты, не уступающие хлорной извести, а именно как в опытах с пастой, так и с клеем, 0,1% $ZnSO_4$ подавляло развитие бактериальной флоры (часть дрожжевой и грибковой флоры при этом все же сохранялась) и тем обеспечивало сохранение нормальной консистенции клея и пасты.

Мысль о применении в данном случае кристаллвиолета была заимствована нами из практики приготовления некоторых избирательных бактериологических сред для *coli-typhus* группы: прибавление к среде *Conradi-Drigalsky* ничтожных разведений этой краски делают ее весьма неблагоприятной для целого ряда видов и, в частности, группы спорогенных, к которой принадлежат и вышеуказанные вредители спичечного производства.

Действительно, при прибавлении кристаллвиолета к спичечной массе, зараженной *B. mesentericus'ом*, даже в таких концентрациях как 0,0006%, повторные посевы оставались стерильными или же обнаруживалось ничтожное количество живых особей, и масса сохраняла свою нормальную консистенцию. Особо выраженная чувствительность данной бактериальной группы к действию краски была в этой серии опытов резко выражена — так *Torula glutinis*, частое нахождение которой в спичечной массе было отмечено выше, обнаруживается в посевах и при прибавлении 0,006% кристаллвиолета, т. е. дозы в 10 раз большей, чем та, которая достаточна для устранения *B. mesentericus*; факт этот, впрочем, практического значения не имеет, так как *Torula glutinis*, как указывалось выше, даже при интенсивном развитии в спичечной массе, видимых изменений ее не вызывает.

Таким образом, кристаллвиолетт, в дозах 6—7 мг. на 1 литр клея, повидимому, с успехом может быть применен при процедуре замачивания клея там, где условия производства не позволяют быстрого осуществления выше приведенных профилактических мероприятий — спички, изготовленные из такой массы, отличаются от нормальных только фиолетовым цветом своих головок, давая 100% зажигаемости.

На основании этих данных является возможным формулировать следующие выводы:

1. Исследованное нами „заболевание" спичек имеет бактериальную природу и обусловлено жизнедеятельностью спорогенных бактерий из группы *B. mesentericus vulgatus*, которые, благодаря своему энергичному протеолитическому действию, гидролизируют

клей и превращают его из вязкой, желатиноподобной массы в легкоподвижную жидкость, неспособную связывать спичечную массу.

2. Борьба с этим заболеванием, которое легко может, при широком применении такого недоброкачественного клея, принять эпидемический характер, должна иметь предупредительный характер, т. е., как приготовление сухого клея, так и замачивание его на спичечных фабриках должно быть поставлено в условия, исключающие возможность его массового бактериального заражения, для чего необходимо соблюдать тщательную чистоту (применение чистой в бактериологическом смысле слова) воды, охранять воздух помещения от пыли, содержать в чистоте резервуары, где замачивается клей и т. д., а также возможно сократить длительность процедуры замачивания.

3. В случаях, где быстрое проведение указанных мероприятий почему-либо невозможно и бактериальное загрязнение клея при замачивании неизбежно, прибавление к раствору антисептических веществ, подавляя рост бактерий, позволяет получить клеевой раствор нормальной консистенции, пригодный для изготовления спичечной массы. Из испытанных нами веществ наиболее достигающими цели в этом отношении оказались: 1) кристаллвиолетт в концентрации не ниже 0,0006%, 2) миамин — 0,05%, 3) хлорная известь — 0,1%, 4) $ZnSO_4$ — 0,1%.

Прибавим, что мысль о прибавлении *antiseptica* к спичечному клею не является новой — уже по окончании работы мы имели возможность узнать, что эта мера была предложена для спичечных производств в тропических странах (Deutsche Zündw. — Ztg. № 10, 1927).

Из Бактериологического Ин-та им. Пастера. Ленинград.

Некоторые данные о механизме феномена Castellani.

М. А. Зеликина и А. М. Беньяш.

Феномен брожения, описанный Castellani, сводится в основном к следующему. При засеве 2-х видов микробов в среду, содержащую какой-либо сахар или многоатомный спирт, получается сбраживание этих веществ с *образованием газа*; каждый же из микробов *в отдельности* данного сахара или спирта с газообразованием *не* разлагает. Для получения феномена Castellani необходимы два условия: 1) один из микробов разлагает с кислотообразованием входящий в среду сахар или спирт, 2) второй микроб инертен по отношению к данному сахару, но обладает способностью расщеплять с газообразованием глюкозу.

Феномен такого рода брожения впервые был отмечен Castellani при изучении различных образцов дрожжей. Castellani обнаружил, что обыкновенные хлебные дрожжи не являются чистой культурой одного вида дрожжевого грибка, а представляют собой смесь нескольких видов дрожжевых грибков и бактерий. Изучая ферментативные способности каждого из компонентов, Castellani заметил, что дрожжи в целом сбраживают с газообразованием большее количество углеводов, чем каждый из микробов или дрожжевых грибков в отдельности. В своих дальнейших работах Castellani указал на целый ряд комбинаций микроорганизмов, дающих данный феномен. Для примера укажем на сбраживание с образованием газа маннита, мальтозы и сорбита при симбиозе тифозной палочки с палочкой Morgani или протеем; аналогичное сбраживание мальтозы при симбиозе дизентерийной палочки Flexner'a и палочки Morgani и газообразование на маннитной среде при симбиозе дизентерийной палочки Flexner'a и протея.

Впоследствии Castellani и другие авторы (Fiallos, Peruzzi, Menon) расширили число наблюдений, а также нашли этому феномену известное практическое применение при дифференцировании микробов и идентифицировании некоторых сахаров.

В отношении механизма феномена Castellani указывает, что по неопубликованным данным Harde и Schütze, при симбиозе тифозной палочки и палочки Morgani на среде с маннитом газообразование происходит за счет муравьиной кислоты, образующейся при расщеплении маннита тифозной палочкой.

По предложению О. О. Гартоха мы занялись изучением феномена газообразования при симбиозе тифозной палочки и палочки Morgani на маннит-пептонной воде.

В задачи нашего исследования входило выяснение условий, при которых феномен газообразования проявляется, а также изучение роли муравьиной кислоты в означенном феномене в связи с наблюдениями Harde и Schütze. К последнему вопросу мы подошли следующим образом. Двухсуточная культура тифозной палочки на маннит-пептонной воде подкислялась серной кислотой

(0,4 *к.с.* крепкой серной кислоты на 100 *к.с.* среды) и перегонялась до исчезновения кислой реакции в конечных фракциях отгона. В виду длительности процесса, во избежание сильного сгущения и обугливания отгоняемой жидкости, перегонка производилась водяными парами. Отогнанная жидкость после предварительного подщелачивания выпаривалась до первоначального объема и химическим путем с *Argentum nitricum* испытывалась на присутствие муравьиной кислоты. Результат испытания получался положительный. Уксусной кислоты в отгоне найдено не было.

На отогнанной жидкости, а также на остатке от перегона, была приготовлена пептонная вода, и обе порции засеяны культурой *B. Morgani*. Газ образовывался лишь на пептонной воде, приготовленной из перегона [1]).

Из этого опыта следует, что газообразование происходит за счет сбраживания веществ, переходящих в перегон, а не каких-либо других продуктов расщепления маннита нелетучего характера. Концентрация летучих кислот, образующихся при сбраживании маннита тифозной палочкой, была нами определена путем титрования перегона децинормальным едким натром. Если не без основания предположить, что отгоняемые кислые вещества являются преимущественно или исключительно муравьиной кислотой, то при пересчете на муравьинокислый натр найденные величины соответствуют 0,14% *Natrium formicicum*. Контрольные опыты брожения, поставленные с различными концентрациями муравьино-кислого натра в пептонной воде, показали, что видимое брожение получается еще и при более низких концентрациях, лежащих между 0,125—0,06%.

Эти количественные данные не противоречат предположению, что феномен Castellani происходит за счет образования муравьиной кислоты в процессе расщепления тифозной палочкой маннита и последующего расщепления муравьиной кислоты палочкой Morgani до газообразных продуктов.

Небезынтересно было проверить это предположение методом газового анализа. Требовалось выяснить, получаются ли при феномене Castellani те же газообразные продукты, что и при расщеплении муравьино-кислого натра палочкой Morgani. Для этого нами был произведен анализ 2-х порций газа. Одной — полученной при симбиозе тифозной палочки и палочки Morgani на маннит-

---

[1]) Первоначальные опыты, при которых среда подкислялась 5 *к.с.* серной кислоты на 100 *к.с.* среды, давали другие результаты: брожение получалось и на остаточной жидкости. При дальнейшей проверке было выяснено, что добавление большого количества серной кислоты к незасеянной маннит-пептонной среде и длительное кипячение ведет к образованию продуктов, сбраживаемых палочкой Morgani с газообразованием. Можно предположить, что и газообразование в первоначальных опытах на среде, приготовленной из остаточной жидкости, имело то же происхождение. Прибавляя в дальнейшем для подкисления среды количество серной кислоты в 0,4 *к.с.* на 100 *к.с.* среды, при котором соответствующих изменений самой среды не наблюдается, мы получали газообразование лишь на среде, приготовленной из перегона. Природу и характер продуктов, образующихся на маннит-пептонной воде вследствие добавления больших количеств серной кислоты и сбраживаемых с образованием газа палочкой Morgani, мы не выясняли, т. к. это не входило в задачи нашего исследования.

пептонной воде и другой — образовавшейся при сбраживании добавленного к пептонной воде муравьино-кислого натра.

Результаты исследования в обоих случаях оказались аналогичными. Выделяющийся газ состоит из смеси водорода и углекислого газа; последнего в опыте с симбиозом обнаружено больше, что, повидимому, находится в зависимости от кислой реакции среды, при которой количество поглощенного средой углекислого газа меньше. Оказалось, таким образом, что и данные газового анализа не противоречат предположению о роли муравьиной кислоты в феномене Castellani.

Отправным пунктом наших дальнейших исследований послужило наблюдение Castellani, что при позднем подсеве 2-го микроба феномен газообразования может отсутствовать. Для ориентировки нами был поставлен следующий опыт: в ряд пробирок с маннит-пептонной водой, засеянных петлей суточной агаровой культуры тифозной палочки, было подсеяно через различные промежутки времени по одной петле суточной агаровой культуры *Bac. Morgani*. Приводим протокол опыта, отмеченного через 48 часов (табл. 1).

Табл. 1.

Подсев палочки Morgani к тифозной культуре через различные промежутки времени.

Время засева	Одновременный засев		Подсев *Bac. Morgani* через 6 час.		Подсев *Bac. Morgani* через 12 час.		Подсев *Bac. Morgani* через 24 часа	
№№ пробирок	1	2	3	4	5	6	7	8
Газ . . .	+	+	—	—	—	—	—	—

Как видно из протокола, газообразование получилось лишь при одновременном засеве обеих культур. Подсев через 6 и больше часов давал отрицательный результат.

Опыты с количественным учетом размножения *Bac. Morgani*, подсеянного через 6 часов, вполне объяснили отмеченное явление (табл. 2).

Табл. 2.

Учет размножения Bac. typhi и Bac. Morgani в маннит-пептонной воде при подсеве одной петли агаровой культуры Bac. Morgani через 6 часов после предварительного засева одной петли агаровой культуры Bac. typhi.

Обнаружено / Высев в разведении	*Bac. typhi*	*Bac. Morgani*
1 : 100 000	25 кол.	0
1 : 1 000 000	3 „	0

Высевы производились через 24 часа после подсева *Bac. Morgani:* 0,1 *к.с* симбиотической культуры рассевались в разведениях 1:100 000 и 1:1 000 000 по поверхности чашек Petri с маннит-сульфитным агаром. Подсчет красных (тифозных) и белых (*Bac. Morgani*) колоний производился через 24 часа. Опытные данные показывают, что даже в 6 часовой культуре тифозной палочки размножение *Bac. Morgani* резко задерживается. Аналогичную задержку размножения палочки *Morgani* мы отмечаем и на 6—12—24-х часовых культурах тифозной палочки на маннит-пептонной воде, предварительно убитых нагреванием. Таким образом, отсутствие феномена газообразования при подсеве палочки *Morgani* к 6—12 и более старым культурам *Bac. typhi* на маннит-пептонной воде исчерпывающе объясняется торможением роста палочки *Morgani* под влиянием продуктов метаболизма тифозной культуры. Это подтверждается, между прочим, и тем, что и при одновременном засеве большого количества *Bac. typhi* и малого количества *Bac. Morgani* размножения последней, а, следовательно, и газообразования не получается. С другой стороны, можно создать такие условия опыта, когда и при подсеве *Bac. Morgani* к 6 часовой культуре тифа получится газообразование. Достигается это малым засевом культуры *Bac. typhi* и последующим массивным подсевом *Bac. Morgani* (табл. 3).

Табл. 3.

Размножение палочки Morgani и наличие феномена газообразования, в зависимости от количественной стороны засева Bac. typhi.

Постановка опыта	Результат опыта через 24 часа	
	Размножение *Bac. Morgani*	Газ
В 5 *к.с.* маннит-пептонной воды одновременно засеяна петля *Bac. typhi* и 190 микр. тел *Bac. Morgani.*	—	—
В 5 *к.с.* маннит-пептонной воды засеяно 700 микробн. тел *Bac. typhi* и через 6 часов 1 петля *Bac. Morgani.*	+ (в 1 *к.с* 254 миллиона микробн. тел *Bac. Morgani*).	+

Что касается механизма торможения роста *Bac. Morgani*, естественным казалось предположить, что оно в первую очередь зависит от кислотности среды, обусловленной разложением маннита тифозной палочкой.

Для выяснения этого вопроса маннит-пептонная среда засевалась большими и малыми количествами тифозной культуры. Через определенные промежутки времени p_H среды принимает значения приведенные в табл. 4.

При подсевах *Bac. Morgani* к убитым через различные промежутки времени культурам тифозной палочки со значениями p_H 5,1 — 4,6 — 4,2 палочка *Morgani* действительно не размножалась.

Табл. 4.

p_H среды через 6, 12, 24 и 48 часов роста тифозной палочки на маннит-пептонной воде при большом и малом засевах. p_H исходной среды 7,1.

Количество засеянной к—ры тифа	p_H среды через:			
	6 ч.	12 ч.	24 ч.	48 ч.
Большой засев *Bac. typhi* (0,1 к.с бульонной культуры)	6,1	5,1	4,6	4,2
Малый засев *Bac. typhi* (290 микробн. тел)	7,1	7,1	5,1	4,4

В то же время одно подщелочение убитой нагреванием 48-часовой культуры *Bac. typhi* на маннит-пептонной воде делает эту среду вновь пригодной для роста *Bac. Morgani* и газообразования. Эти данные до известной степени исключают предположение о наличии в тифозных культурах на маннит-пептонной среде тормозящих веществ *sui generis* и подтверждает высказанное предположение о роли кислотности среды в торможении роста *Bac. Morgani.*

Попытки подтвердить это положение опытом, в котором маннит-пептонная вода подкислялась соляной кислотой до тех же значений p_H, при которых не получался рост *Bac. Morgani* на убитых нагреванием тифозных культурах, успехом не увенчались, — даже при p_H 4,6 на подкисленных *HCl* средах еще наблюдалось размножение *Bac. Morgani.* Из этого вытекает, что сама по себе концентрация водородных ионов не играет в симбиотическом опыте решающей роли в торможении роста *Bac. Morgani.* Так как кислотность среды при росте тифозной палочки на среде с маннитом обусловлена накоплением в ней муравьиной кислоты, напрашивалось предположение связать феномен торможения не с p_H как таковым, а с наличием в среде именно муравьиной кислоты. Соответствующий опыт с учетом влияния концентрации муравьиной и соляной кислот на рост *Bac. Morgani* представлен в табл. 5.

Пробирки с культурой *Bac. typhi* на маннит-пептонной воде были прогреты через 6—12—24 часа и в них колориметрически определено p_H. В двух других рядах пробирок маннит-пептонной воды установлены соответственные значения p_H — в одном ряду прибавлением *HCl*, в другом — *HCOOH.* Все пробирки засеяны одним и тем же числом микробных тел *Bac. Morgani.*

Высевы для учета размножения *Bac. Morgani* производились через 24 часа.

Из данных опыта (табл. 5) следует, что муравьиная кислота в концентрации, необходимой для подкисления маннит-пептонной воды до p_H 5,4 и ниже, является действительно тормозом размножения *Bac. Morgani.*

В водном растворе муравьиная кислота содержится в виде: 1) недиссоциированной кислоты, притом в преобладающем количестве и диссоциированной на анион муравьиной кислоты *HCOO*

Табл. 5.

Влияние концентрации муравьиной и соляной кислот на размножение Bac. Morgani.

Количество микробных тел *Bac. Morgani* в 1 *куб.с.* среды через 24 часа.			
ρ_H	6,4	5,4	4,6
Убитые культуры тифа через 6, 12, 24 часа.	269.000.000	<1000	<1000
Маннит-пептонная вода + + *HCOOH.*	197 000.000	<1000	<1000
Маннит-пептнная вода + + *HCl.*	247.000.000	245.000.000	60.000

и водородный ион H^+. Очевидно, торможение роста *Bac. Morgani* не обусловлено присутствием водородного иона, так как в среде, подкисленной *HCl* до тех же концентраций H^+, как уже было упомянуто, такого торможения не наблюдается. Не связано торможение также и с анионом муравьиной кислоты, так как в пептонной воде с 1% муравьино-кислого натра, содержащим анион муравьиной кислоты в значительно-большей концентрации, чем при условиях предыдущего опыта, получается обычный вполне удовлетворительный рост *Bac. Morgani.* Остается предположить, что задержка роста обусловлена наличием в среде недиссоциированной муравьиной кислоты. Для доказательства этого предположения был поставлен следующий опыт. Предварительными опытами было определено, что на пептонной воде, подкисленной *HCOOH*, хороший рост *Bac. Morgani* получается при ρ_H 6,0, скудный при ρ_H 5,7. Основываясь на этом, прибавлялись в ряд пробирок с маннит-пептонной водой (ρ_H 6,0) убывающие количества 5% раствора муравьино-кислого натра, подкисленного соляной кислотой до ρ_H 6,0. Такая постановка опыта позволяет иметь различные концентрации недиссоциированной *HCOOH* в среде при одном и том же значении ρ_H: прибавленная к раствору муравьино-кислого натра соляная кислота вытесняет эквивалентное количество муравьиной кислоты и последняя в присутствии муравьино-кислого натра вся почти находится в недиссоциированном состоянии; ρ_H раствора определяется соотношением $\frac{HCOOH}{HCOONa}$ и поэтому при разведении не меняется, между тем, как концентрация недиссоциированной муравьиной кислоты (а также *HCOONa*) убывает пропорционально разведению (табл. 6).

Количество засеянных микробов *Morgani* — 82 на 1 *куб. с.* Из приведенного опыта видно, что при максимальной концентрации недиссоциированной муравьиной кислоты (в первой пробирке), часть засеянных микробов погибла, а с уменьшением концентрации уменьшается и тормозящее рост влияние.

Табл. 6.

Размножение палочек Morgani в среде с постоянным ρ_H и убывающим количеством недиссоциированной муравьиной кислоты.

№№ пробирок	1	2	3	4	5
Количество *куб. с.* 5% *HCOONa* (подкисл. соляной к-той) на 5 *куб. с.* среды	0,8	0,4	0,2	0,1	0,05
ρ_H (электрометрически)	6,14	6,12	6,12	6,12	6,16
Количество микробов *Bac. Morgani* в 1 *куб. с.* через 24 часа	22	103	6.020.000	88.000.000	140.000.000

Благодаря случайной погрешности в постановке одного из симбиотических опытов было подмечено следующее явление. Если 48-часовую убитую культуру тифозной палочки на маннит-пептонной воде перещелочить приблизительно до $\rho_H = 8{,}6$, а затем подсеять *Bac. Morgani*, — газообразование не наступает. Неоднократно повторенный опыт с прогретой и перещелоченной культурой тифозной палочки с последующим засевом *Bac. Morgani* давал неизменно тот же результат. Непонятным на первый взгляд оставалось то, что контрольные засевы *Bac. Morgani* на пептонную воду с 1% муравьино-кислого натра при тех же условиях щелочности (ρ_H 8,6) давали отчетливое газообразование. Так как при 48-часовом росте *Bac. typhi* на маннит-пептонной воде образуется муравьиная кислота в концентрации, соответствующей лишь 0,14% муравьинокислого натра, контрольные опыты были поставлены с соблюдением аналогичных основному опыту концентраций *Natrium formicicum*. Палочка *Morgani* засевалась на пептонную воду при 2-х концентрациях муравьино-кислого натра — 0,125% и 1% — и при разных значениях ρ_H (табл. 7).

Табл. 7.

Засев палочки Morgani на среды с различным содержанием Natrium formicicum при разных ρ_H.

% содержание *HCOONa*	0,125%		1%	
ρ_H	6,6	8,6	6,6	8,6
Газообразование	+	−	+	+

Полученные опытные данные (табл. 7) показывают, что при ρ_H 8,6 феномен газообразования зависит от количества находящегося в среде муравьино-кислого натра. Это обстоятельство объясняет несовпадение контрольного опыта с основным в тех случаях, когда бралась пептонная вода не с 0,125%, а с 1% *Natrium formi-*

cicut. Из этого же опыта вытекает, что наличие или отсутствие газообразования на средах с одной и той же концентрацией муравьино-кислого натра, засеянных палочкой *Morgani*, находится в исключительной зависимости от ρ_H среды; это становится понятным, если субстратом брожения считать свободную муравьиную кислоту, а не анион муравьиной кислоты, содержащийся в растворе муравьино-кислого натра. Подтверждением такого предположения может служить следующий опыт (табл. 8).

При построении опыта мы исходили из следующих положений. При подкислении раствора муравьино-кислого натра кислотой, например, соляной, количество свободной муравьиной кислоты нарастает одновременно с повышением концентрации водородных ионов. С другой стороны, как было уже указано, растворы с убывающим количеством муравьино-кислого натра при неизменном ρ_H содержат свободную *HCOOH* в количествах, убывающих пропорционально снижению концентрации *HCOONa*. Исходя из этих положенний, мы поставили следующий опыт. Было взято 3 ряда пробирок (по 4 в каждом) с пептонной водой. Реакция пептонной воды первого ряда 6,3 ρ_H, 2-го — 7,2 ρ_H и 3-го — 8,2 ρ_H — была достигнута прибавлением соответствующих фосфатных буферов[1]). В первую пробирку каждого ряда прибавлено до 0,5% муравьино-кислого натра, во 2-ю до 0,25%, в третью — 0,125% и в четвертую — до 0,06%. Пробирки первого ряда при такой постановке опыта содержат больше свободной муравьиной кислоты, чем соответствующие пробирки II и III рядов. В третьем ряду концентрация муравьиной кислоты минимальная и зависит здесь только от гидролиза муравьино-кислого натра. Если высказанное предположение, что субстратом брожения является свободная муравьиная кислота, правильно, то брожение в 1-ом ряду должно получиться при меньшей предельной концентрации муравьино-кислого натра, чем во 2-ом ряду, а во втором — при меньшей, чем в третьем. Приведенный в таблице 8 опыт подтверждает наши предположения.

Табл. 8.

Зависимость газообразования от концентрации свободной HCOOH.

№№ пробирок		1	2	3	4
№ ряда	$\%$ *HCOONa* / ρ_H	0,5%	0,25%	0,125%	0,06%
I	6,3	+	+	+	+
II	7,2	+	+	+	—
III	8,2	+	+	—	—

\+ — обозначает газообразование.
— — „ отсутствие газообразования.

[1]) Установка реакции производилась фосфатными буферами, чтобы избежать более или менее значительных изменений реакции среды в течение опыта, в виду того, что сбраживание *HCOOH* протекает со снижением кислотности среды.

Окончательное решение вопроса о субстрате брожения было бы возможно, если бы удалось количественно учесть содержание свободной муравьиной кислоты в каждой пробирке данного опыта, что в среде, содержащей пептон, представляет большие затруднения.

В течение работы мы неоднократно наблюдали, что количество газа, образующееся при симбиозе *Bac. typhi* и *Bac. Morgani* на маннит-пептонной воде, значительно более того количества, которое образуется при подсеве *Bac. Morgani* к убитой нагреванием 48-часовой культуре *Bac. typhi* на той же среде. Наиболее вероятное допущение — что при симбиозе обоих микробов образуется бо́льшее количество субстрата брожения — муравьиной кислоты, т. е. сбраживание маннита идет количественно дальше, чем в присутствии одной тифозной палочки. Оба эти фактора способствуют дальнейшему расщеплению маннита. Для подтверждения такого предположения нами был поставлен нижеследующий опыт. В два ряда пробирок, по 3 пробирки в каждом, добавлено в 1-ю пробирку — 0,4% маннита, во вторую — 0,2% и в третью — 0,1%. Один ряд засеян *Bac. typhi*, другой *Bac. typhi* + *Bac. Morgani*. Через 48 часов все пробирки прогреты, подщелочены и вновь засеяны культурой *Bac. typhi*. Как видно из протокола опыта (табл. 9), реакция среды после 2-го засева в пробирке 1-го ряда, содержащей 0,2% маннита, подкислилась, а в соответствующей пробирке второго ряда осталась без изменения. Из этого следует, что за один и тот же промежуток времени при симбиозе сбраживается 0,2% маннита, тогда как при росте одной тифозной палочки — только 0,1%.

Табл. 9.

Сбраживание маннита одной тифозной палочкой и при симбиозе с палочкой Morgani.

Засев	*Bac. typhi*			*Bac. typhi* + *Bac. Morgani*		
Концентрация маннита	0,4%	0,2%	0,1%	0,4%	0,2%	0,1%
Через 48 часов роста при 37°.	Реакция везде кислая. Среда нейтрализована и прогрета. Во все пробирки посеяна культура *Bac. typhi*.					
Подкисление среды через 24 часа после вторичного засева.	+	+	—	+	—	—

Выводы:

1. Феномен Castellani при симбиозе *B. typhi* и *B. Morgani*, на маннит-пептонной воде обусловлен расщеплением маннита тифозной палочкой с образованием муравьиной кислоты и сбраживанием последней *Bac. Morgani* с выделением H_2 и CO_2.

2. Отсутствие газообразования при поздних подсевах *Bac. Morgani* к культуре тифа на маннит-пептонной воде зависит от торможения роста *Bac. Morgani*, обусловленного накоплением в среде муравьиной кислоты, в необходимой для торможения концентрации, при чем торможение зависит не от достигаемого в среде ρ_H, а от наличия недиссоциированной кислоты.

3. Субстратом брожения, повидимому, является свободная муравьиная кислота, а не ее соли.

4. При симбиозе расщепление маннита культурой *Bac. typhi abdom.* идет количественно дальше, чем при росте одной тифозной палочки на той же среде.

Из Бактериологического Ин—та имени Пастера в Ленинграде.

К вопросу о рационализации методики пипетирования при бактериологических и серологических исследованиях.

Н. Кадлец.

Пипетирование в бактериологических лабораториях, обычно, производится двояким способом: или посредством резинового колпачка — (баллончика), насаживаемого на свободный конец пипетки, или, гораздо чаще, просто ртом. Оба способа имеют свои недостатки. Насасывание ртом, прежде всего с гигиенической точки зрения, должно рассматриваться, как весьма нежелательная процедура при всяких лабораторных исследованиях вообще, а при работах с заразным материалом, как например, при р. агглютинации, — в особенности. Большая часть лабораторных заражений, описанных в литературе, имела место во время пипетирования ртом (Gutfeld).

Из 57 случаев тифозных заражений, собранных Kisskalt'ом 25 — произошли вследствие насасывания пипеткой инфекционного материала, 19 — неизвестным способом где, однако, также не исключалась возможность заражения через пипетку. Несомненно, что число оставшихся неопубликованными случаев должно быть значительно еще больше. Опасность заражения при работах посредством насасывания ртом заключается не только в возможности непосредственного занесения жидкости с заразным материалом в полость рта, но также и в загрязнении мундштучной части пипетки пальцами работающего. По меткому выражению Paneth'a пипетирование ртом „в сущности ни что иное — как облизывание своего собственного указательного пальца".

Если принять во внимание, что в некоторых случаях (приготовление вакцины и сывороток) пипетирование с жидкостями, содержащими живой вирус, является значительной частью повседневных процедур, что в других случаях (бактериологическое исследование выделений и отделений человека в диагностических отделах лабораторий) теми же пальцами правой руки берется и посуда с заразным материалом, нередко запачканная с поверхности, то вопрос о полной недопустимости пипетирования ртом и о необходимости его замены более рациональным методом приобретает полную очевидность.

Перед этим недостатком другое неудобство, заключающееся в том, что при насасывании ртом крайне неудобно наблюдать за уровнем поступающей в пипетку жидкости, отступает на второй план, равно как и то обстоятельство, что при этом способе мы нередко подвергаем наши жидкости опасности бактериального загрязнения вследствие дыхания через нос. В общем можно сказать, что пипетирование ртом в настоящее время при современной вы-

соко-разработанной лабораторной методике, есть не более, чем анахронизм, который уже давно следовало бы предать забвению. К сожалению этот способ все еще продолжает практиковаться, так как он технически — проще, а потому и удобнее остальных способов, о которых даже в больших бактериологических руководствах обычно ничего не говорится. Насасывание же посредством резинового колпачка (баллончика), хотя и гигиенично, но менее удобно и даже неприменимо в ряде случаев, как например, при серологических работах с градуированными пипетками, т.-е. там, где жидкость, набираемая в пипетку, должна спокойно удерживаться на точно-определенном уровне. С уверениями некоторых авторов (Paneth, Gotschlich), что при некотором упражнении пипетирование с колпачком может вполне заменить метод насасывания ртом, согласиться на наш взгляд довольно трудно.

Нельзя сказать, что вопросу о рационализации методики пипетирования до сих пор уделялось в соответствующей, главным образом немецкой,—литературе слишком мало внимания. В предложениях, которые делались в разное время, недостатка, как будто, не ощущается. Ни один из разнообразных новых способов пипетирования, однако, в практике лабораторных исследований широкого применения не получил; большое же их число (по литературной сводке W. Fricke к 1919 г. уже насчитывалось 25 номеров) говорит только за то, что вопрос этот и по сие время продолжает оставаться все еще актуальным.

Упомяну вкратце о некоторых.

Описанная Miller'ом (1908) автоматическая пипетка для реакции опсонинов по Wright'у конструктивно слишком сложна и расчитана на малые количества жидкости. Эта работа показывает, между прочим, что техника пипетирования с колпачком, так, казалось бы, идеально разработанная Wright'ом в его классическом сочинении, нуждается еще в дальнейшем усовершенствовании. Градуированные пипетки C. Permin'a (1911) на мундштучном конце имеют специальное ответвление; насасывание производится специальным резиновым баллоном, надевающимся на пипетку в месте бокового отверстия. Измерительная пипетка Walthe (1908) работает посредством сбоку прилаженного специального шприца. Пипетка Hoerder'a (1909), предложенная автором для серологических, биологических, физиолого-химических и особенно для опсонических работ снабжена микрометрическим винтом, передвигающим столбик ртути. Все эти перечисленные и некоторые другие аналогичные приспособления вследствие сложности своего устройства, а, главное, вследствие менее удобного обращения с ними, конечно, не смогли вытеснить из употребления простой и быстрый способ насасывания ртом. Конкурировать с последним способом мог бы, как нам кажется, только такой метод, который позволял бы посредством максимально простого приспособления превращать *любую* пипетку в автоматическую. Поэтому, даже такое простое, видоизменение, какое предложил проф. Kitt (1909) не смогло достигнуть цели. По этому автору пипетки должны делаться с воронкообразным расширением на свободном конце, на которое плоско натягивается обыкновенный резиновый колпачек для пробирок и завязывается ниткой. Набирание и спускание жидкости производится нажимом одного лишь указательного пальца. К числу более простых приспособлений, которые бы позволяли производить работу с обычными пипетками, можно отнести следующие. Особый резиновый колпачек, раздвигающийся на манер мехов гармонии и сверху снабженный кольцом для указательного пальца. (Kitt 1913). Fischer (1907) предложил для пипетирования при реакции Widal'я пользоваться куском никелированной проволоки с ватным тампоном на конце, вставленной в пипетку. Проволока с тампоном играет роль поршня.

При всей своей кажущейся практичности этот способ может иметь лишь ограниченное применение; кроме того—пипетку приходится держать двумя руками.

Еще проще — метод Müller'a (1907): вместо насасывания ртом, пипетка просто погружается в узкую пробирку или специальный цилиндрик, наполненный исследуемой жидкостью. Недостаток этого способа в том,—что заразная жидкость смачивает всю наружную поверхность пипетки, кроме того, приходится тратить время на ожидание, пока вся эта наружная жидкость стечет с поверхности вынутой пипетки.

Действительно же практичным по своей простоте и универсальности, является, как нам кажется, простое приспособление, предложенное M. Wolff'ом (1908) и принцип которого был впоследствии использован Pappenheim'ом и Portmann'ом в их модификациях кровяных смесителей. Дело сводится к следующему. На любую пипетку надевается маленький стеклянный цилиндрик в виде колпачка. Отверстие цилиндрика запирается герметически обхватывающим одновременно, и цилиндрик и пипетку, резиновым кольцом, сохраняющим однако свободную подвижность цилиндрика по поверхности пипетки. Конец пипетки, двигающийся внутри цилиндрика, играет роль поршня в стеклянном шприце типа Stroschein'a. (Этот тип инъекционного шприца, вытесненный типами Luer'a и Record'a в современной лабораторной практике уже не употребляется). Это приспособление позволяет 1) вести работу одной правой рукой, 2) легко набирать под контролем зрения жидкость до нужного уровня, при чем, что особенно ценно, 3) удерживать автоматически жидкость на одном и том же уровне неограниченное время и 4) точно спускать минимальные доли объема жидкости. Тем не менее, однако, и это предложение, несмотря на все свои достоинства, разделило участь предыдущих. Оказалось, что и этот метод не лишен своих недостатков. При надевании цилиндрика с резиновым запирающим кольцом на пипетки разного диаметра не всегда получается достаточно герметический обхват. С другой стороны, объем жидкости, который можно насосать в пипетку, всегда соответствует объему того конца пипетки, который выдвигается из просвета цилиндрика наружу. Поэтому, чтобы поднять уровень жидкости в тонкостенных пипетках на значительную высоту, необходимо наружный цилиндрик делать соответственно более длинным. Более практичным, однако, было бы по нашему мнению не удлинение поршня, а увеличение его объема за счет диаметра.

Эти оба недостатка, как нам кажется, устраняются следующим предлагаемым видоизменением, способа Wolff'a. На мундштучный конец любой пипетки надевается не одна пробирка, а две, соединенные предварительно вместе в одно целое таким образом, что получается самодельный, легко изготовляемый в любой лаборатории с минимальным оборудованием, шприц типа Stroschein'a.

Для этой цели поступают следующим образом: подбирают 2 пробирки разных диаметров, но так, чтобы одна из них по возможности плотнее входила в другую. Длина наружной более широкой пробирки 5—8 *см.*, ее края слегка оплавляются. Внутренняя пробирка, вставляющаяся в виде поршня в наружную, длиннее и равняется 10—12 *см.* В ее внутреннем конце,—донышке (а), (рис. 1.) проделывается отверстие. Для этой цели это место расплавляется на пламени

паяльной горелки, после чего с силой выдувается тонкостенный пузырь, легко обламывающийся и оставляющий на своем месте отверстие с неровными краями. Края оплавляются. Противоположный конец внутренней пробирки оттягивается, как показано на рисунке (b). На него надевается отрезок резиновой трубки (c) нужного диаметра для соединения с мундштучной частью пипеток. Наружная трубка этого самодельного шприца соединена с внутренней посредством кольца из резиновой трубки (d) таким образом, что при движениях внутренней трубки взад и вперед, охватывающее герметически обе трубки резиновое кольцо сохраняет способность свободно скользить по поверхности только внутренней трубки, не смещаясь с наружной. Поверхность внутренней трубки от времени до времени натирают кусочком парафина и посыпают тальком или порошком алюминия. Пипетка с насаженным шприцом удерживается правой рукой, раздвигание и сдвигание шприца производится большим и указательным пальцами. (рис. 2.) Жидкость, поднятая в пипетке до определенного уровня, автоматически удерживается на нем до тех пор, пока на шприц не будет произведен новый нажим. Количество жидкости, которое способен поднять шприц, зависит от диаметра (при одной и той же длине шприца) его внутренней трубки. Поэтому следует изготовить сразу несколько шприцев из пробирок различного диаметра, от агглютинационных до крупных бактериологических образцов включительно.

Рис. 1.

Такими самодельными приспособлениями для пипетирования мы пользуемся уже в течение нескольких лет, особенно при всех посевах микробных эмульсий, при счете микробных тел по Wright'y, при всех манипуляциях с небольшими количествами жидкостей в асептических условиях, например насасывание пипеткой крови, гноя, и т. д. Конечно, небольшой навык в работе и по этому способ требуется. Но он приобретается быстро и пипетирование с таким самодельным шприцем вскоре становится делом столь же привычным и удобным, как например, обращение с платиновой петлей, с пробирками при пересевах и т. д., к чему в свое время каждому бактериологу тоже ведь приходилось приспосабливаться. Пользоваться таким самодельным приспособлением, а не покупным шприцем Люэра, как это предлагает Кроль, на наш взгляд практичнее, и вот по каким соображениям. Прежде всего—потому что это приспособление самодельное, а стало быть и размеры его самого и его частей зависят только от желания изготовляющего, у Люэровских же шприцев длина носика, например, нередко бывает недостаточна для того, чтобы можно было укрепить на нем резиновую трубку. С другой стороны, вытаскивание поршня за его далеко сравнительно отстоящую наружную головку при одновременном фиксировании пальцами правой руки и шприца и пипетки—дело довольно затруднительное.

Рис. 2.

В заключение мы хотели бы выразить надежду, что предлагаемое нами простое приспособление, позволяющее обходиться без опасного метода пипетирования ртом, не встретится с излишним консерватизмом, найдет себе применение в нашей повседневной лабораторной практике, и тем самым, хотя бы до известной степени, оздоровит работу лабораторному персоналу, постоянно имеющему дело с инфекционным материалом.

Из Бактериологического Ин-та им. Пастера — Ленинград.

Вариабильность некоторых представителей кишечной группы.

С. С. Казарновская, М. И. Каневская, М. А. Зеликина и Е. Т. Павлова.

С первых шагов бактериологии, со времени обоснования теории специфичности, уже обозначились довольно существенные расхождения между лабораторной микробиологией, эпидемиологией и клиникой.

Общее направление естественно-научной мысли в тот период (Дарвинизм, мутационная теория De Vriese) сказалось и на попытках разрешения этих противоречий и ключ к объяснению многих расхождений, казалось, мог быть найден в вариабильности микробов. Действительно, довавшие рыботы ряда исследователей (Neisser, Bärthlein, Ehrlich и сотр. Morgenroth и сотр., Neufeld и сотр., Eisenberg и др.) подвели экспериментальную основу под это учение, доказав способность бактериальной клетки изменяться, приспосабливаясь к окружающей обстановке.

25-летний опыт микробиологов в изучении изменчивости бактерий нашел себе в наши дни завершение во всем хорошо известной теории диссоциации микробов.

Теперь мы знаем, что бактериальная клетка способна изменяться, и умеем в связи с этим иногда примирять кажущиеся разногласия микробиологии и эпидемиологии; однако в главном мы бродим почти так же в потемках, как и раньше. Разрушены некоторые камни систематики и морфологии микробов, но еще нет опорных пунктов для построения нового здания. Мы почти совершенно не ориентированы ни в направлении, ни в пределах изменчивости. Выяснение этих условий и есть актуальная задача нашего времени.

Этому вопросу посвящена и излагаемая работа.

Объектом исследования служили бактерии из группы *B. dysent. acidific.* и *coli com.*

При выборе мы руководствовались следующими соображениями. Всем хорошо известна неясность эпидемиологии дизентерии, сложность и запутанность систематики и биологии представителей этой группы. В свете теории диссоциации, в свете некоторых данных, выявленных феноменом бактериофагии, известные опорные пункты классификации дизентерийных микробов нуждаются в пересмотре. В связи с этим представлялось интересным исследовать пределы вариабильности этой группы.

Ряд эпидемиологических моментов (появление в период кишечных эпидемий т. наз. лактозо-дефективных и других анормальных *coli* — форм, неопределенность вообще классификации микробов, объединяемых в этой группе и неполная выясненность их взаимоотношений с патогенными микробами) имел значение и при фиксировании нашего внимания на *B. coli* — это с одной стороны, а с другой — играли роль и некоторые другие моменты, — *B. coli* очень активный микроб, и на этом объекте удобно изучать изменчивость ферментативных процессов бактериальной клетки.

I. Наблюдения над B. dysenter. acidificantes.

1. Методика.

Для выявления изменчивости микробов служил метод бактериофагии. Лизин, как известно, может в сильных концентрациях целиком растворять сенсибильную культуру. Чем меньше количество бактериофага в единице объема, тем меньше его, следовательно, адсорбируется каждой клеткой, тем, при прочих равных обстоятельствах, благоприятней условия для проявления каждой клеткой своей потенциальной энергии приспособления. Поэтому в наших опытах применялся разведенный бактериофаг.

Основная постановка опыта. В каждую из 3-х бутылей, содержащих по 50 *к.с* бульона $\rho_H = 7{,}6$, засевалось по 1 ушку исследуемой культуры и приливалось по 0,1 *к.с* соотв. 0,01, соотв. 0,001 *к.с* бактериофага. Таким образом, бутыли разнились друг от друга лишь концентрацией бактериофага.

Наблюдения производились над 3 культурами группы *dysenter. acidificantes* (19838, 19752 и 19852), предварительно очищенными 10-кратным пассажем из колонии в колонию через агаровые чашки.

Применявшийся *Shiga* — Бактериофаг 23 поливалентен, активен в отношении большинства представителей *Shiga* и *Flexner* — группы. Титр $1 : 10^7$; при действии неразведенного бактериофага на сенсибильную культуру образуется небольшое количество резистентных колоний.

Через 18—20 часов из каждой колбы высевалось по 1 ушку одной и той же петли на *Endo*. Высевы производились ежедневно в течение 5 суток с момента посева. Колонии и полученные из них культуры подвергались изучению.

2. Характеристика выделенных культур.

а) *Морфология.* В начале (через 18—20 ч.—2 суток) высевы на *Endo* давали большое количество слизистых колоний с рваными краями, типа *Flatterformen*, состоящих из больших, толстых, разбухших, часто извилистых, грам — отрицательных (иногда грам—пестрых) палочек, уже много раз описанных при действии бактериофага на культуру.

Постепенно, начиная с 3-х суток, количество слизистых форм уменьшалось, вид колоний приближался к нормальному с тем, чтобы через 5 суток ничем не отличатьтя от таковых исходного штамма. Значительное количество колоний (от культуры 19838—24, от 19752—21 и от 19852—19) отсевалось на косой агар и подвергалось исследованию.

Рост слизистых колоний на косом агаре в большинстве случаев скудный, часто лишь несколько колоний. При прикосновении петлей к культуре тянутся слизистые нити. На бульоне рост также довольно скудный, в виде осадка, жидкость над которым почти прозрачна. При взбалтывании культура представляется как бы взвесью комочков слизи в бульоне.

b) *Результаты биохимического обследования* выделенных культур представлены на таблице 1.

Табл. 1.

Название штамма	Галактоза	Глюкоза	Лактоза	Мальтоза	Маннит	Сахароза	Лакт- пепт. вода	Мальт-пепт. вода	Маннит-пепт. вода	Среда Rotberger'a	Глюкозный агар	Молоко	Индол
19838	+	+++	—	++	+	—	—	—	—	—	—	—	+
Ca	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C_{2a}	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C_2, *Cd*	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Ac, Ba, Bb, Bc, Bd, Bc, Cb, Cc	от + до ++	от + до +++	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	от — до +
19752	++	+++	—	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	+
ya, yb, za, zb	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Xa	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
xb, xc, x_{2a}	—	от + до +++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$x_2, y_2, y_{2a}, z_2, z_{2b}$	+	от + до +++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
z_{2a}	±	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
xd, yc,	от + до ++	от + до +++	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
X_2b	+	+	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19852	++	+++	—	±	++	—	—	—	—	—	—	—	+
3zb	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3zc,	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3zd	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3xa, 3ze	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3xb, 3xc, 3xd 3yb, 3yd, 3z, 3za, $3zc_1$	+	от + до ++	—	—	от — до ±	—	—	—	—	—	—	—	—
3yc, $3y_4$, $3y_{4a}$, $3z_4$, $3z_{4a}$	от + до +++	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$3xa_1$	+++	+	—	±	—	—	—	—	+	—	—	—	—

Соответственоо 3-м разведениям бактериофага, производные каждой исследуемой культуры обозначались тремя буквами: для 19838 это были буквы *A*, *B* и *C*, для 19752 — *X*, *Y*, *Z*, а для 19852 — 3*x*, 3*y*, 3*z*. Подстрочный значек указывал продолжительность (в днях) взаимодействия культуры и бактериофага. Различные колонии одного и того же высева помечались малыми буквами приписанными к основной.

Поливалентная сыворотка

Flexner-Hissa. *Табл. 2.*

Разв. сывор. / Штамм	1/100—1/800	1/1600	1/3200	1/6400	K	
19838	+++	+++	+++	++	−	Слизистые штаммы
Производные штамма 19838:						
Ba, Bb, Bc	+	+	+	+	+	
Ac, Ca	−	−	−	−	−	
Bd, C_{2a}	±	±	±	±	±	
Be	++	+	+	+	−	
Cb	++	±	−	−	−	
Cd, C_2 Cc	+	−	−	−	−	
19752	+++	+++	+++	+++	−	Слиз. штаммы
Производные штамма 19752:						
xa, xb, xc, x_2, x_{2a}, x2b, ya, yb, y_2, y_{2a}, za, z_2, z_{2a}, z_{2b}	+	+	+	+	+	
xd, yc, zb	+++	+++	+++	+++	±	неслиз.
19852	+++	+++	+++	+++	−	Слиз. штаммы
Производные штамма 19852:						
3xa, $3xa_1$, 3yc, $3y_4$, 3z, 3zb, 3zc, $3zc_1$, 3ze, $3z_{4a}$	+	+	+	+	+	
3xc, 3xd, 3yb, 3yd, $3y_{4a}$	++	+	+	+	+	
3xb, 3zd, $3z_4$	+++	+++	+++	+++	−	неслиз.
$3z_a$	+++	++	++	++	++	

В биохимическом отношении выделенные культуры делились на 1) совершенно инертные, не разлагающие после 3-х дней пребывания при 37° ни один из испытанных сахаров и спиртов, 2) разлагающие лишь немногие углеводы, чаще всего глюкозу и галактозу и 3) мало уклоняющиеся от исходного штамма.

Способность небольшой группы вариантов (см. т. 1) разлагать сахарозу через 3 суток не обусловлена образованием в них нового

фермента, а лишь ускорением ферментативного процесса, уже присущего исходному штамму. Добавочные опыты показали, что исходный штамм (19838) через 7—8 суток при 37° начинает разлагать сахарозу.

c) *Агглютинация.* Большинство выделенных культур агглютинируется спонтанно в физиологическом растворе, со специфической же поливалентной сывороткой совершенно не реагирует, и лишь небольшое количество культур агглютинируется совершенно аналогично исходному штамму (из 44 лишь 6). (Табл. 2).

При сопоставлении таблиц 1 и 2, а также и данных о слизеобразовании культур, резко выступает полный параллелизм изучаемых свойств выделенных вариантов. — Все культуры, инертные в серологическом отношении, спонтанно-агглютинирующиеся, и либо совершенно инертные биохимически, либо активные только для небольшого числа углеводов, оказались слизистыми. Не слизистые штаммы агглютинируются сывороткой почти до титра, спонтанно не выпадают и в биохимическом отношении активны подобно исходному штамму. Это наблюдение дает право предположить наличие внутренней связи между слизеобразованием и степенью вариабильности микробов. Мы выделили все слизистые штаммы в одну группу, результаты анализа которой и представлены в излагаемой работе.

Биохимическая и серологическая характе

Штаммы	Галактоза	Глюкоза	Лактоза	Мальтоза	Маннит	Сахароза	Лактозо-пепт. вода	Мальт-пепт. вода	Маннит-пепт. вода	Сахарозо-пепт. вода	Среда *Rotberger'a*
$C_{2a\ 30}$	++	+++	—	+	+	—	—	—	—	—	—
Xa_{30}	+++	+++	—	±	+++	—	—	—	—	—	—
$Z_{2a\ 26}$	++	+++	—	±	+++	—	—	—	—	—	—
$3Xa_{26}$	++	+++	—	+	+++	—	—	—	—	—	—
$3Ze_{26}$	+	+++	—	±	++	—	—	—	—	—	—

3. Установление преемственной связи между исходными культурами и соответствующими производными.

Большое количество колоний, высеваемых на чашки в каждом опыте, свидетельствовало, конечно, до некоторой степени, против вульгарного загрязнения в течение опыта, но не исключало воз-

можности симбиоза исходных культур с каким либо посторонним микробом, чем и могло быть обусловлено изменение биохимической и серологической характеристики исследуемых штаммов. Надлежало доказать преемственность между исходными культурами и выделенными слизистыми штаммами, иначе говоря, вернуть последним типовую характеристику.

Слизеобразование, довольно распространенная форма приспосабливания микроба к бактериофагическому лизину, может беспрерывно стимулироваться и не улавливаемым носительством бактериофага, — поэтому методы восстановления нормальных свойств у резистентных слизистых микробов основаны на культивировании их в условиях разрушающих (во всяком случае инактивирующих) бактериофаг (Flu, d'Hérelle, Bordet). Кислая реакция (ρ_H ниже 6,4) среды, наименее благоприятна для проявления активности бактериофага. Наши культуры поэтому пересевались многократно с агара на глюкозный бульон и обратно [1]).

Такой обработке было подвергнуто 5 культур.

Начиная уже с 9—10 пересева в бульоне исчезала свойственная изучаемым штаммам комковатость роста, появлялась постепенно равномерная муть; на косом агаре постепенно утрачивалась слизистость, и культура приобретала все более нормальный вид.

ристика восстановленных штаммов. *Табл. 3.*

Молоко	Индол	Разведения сывороток: От 1/100 до 1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	K	
—	+	+++	++	+	+	±	±	Сывор. штамма 19838
—	±	+++	+	+	+	±	±	Сывор. штамма 19752
—	±	+++	+++	+++	++	+	—	
—	+	+++	+++	+++	++	+	—	
—	+	+++	++	++	+	±	—	

Восстановление типовых свойств достигалось через 26—30 пересевов. Результаты представлены на табл. 3.

[1]) Как уже указано, первые генерации культур были биохимически совершенно инертны (табл. 1), но при последующем росте в течение 2-х суток в глюкозном бульоне постепенно появлялась способность ферментировать глюкозу, чем и обусловливалась кислая реакция.

Штаммы / Развед. сыв.	*Полив. сыв. Flexner-Hissa*			*Моновал. сыв.*	
	от 1/100 — до 1/400	1/800	1/1600 — 1/6400	1/100 — 1/200	1/400
Xa_1	±	±	±	±	±
Xa_{30}	+++	++	+	+++	++
19752	+++	+++	++	+++	+++

Штаммы / Развед. сыв.	*Поливал. сыв. Flexner-Hissa*					Моновал.	
	от 1/100 — до 1/800	1/1600	1/3200	1/6400	K	от 1/100 — до 1/400	1/800
C_{2a}	±	±	±	±	±	±	±
$C_{2a_{30}}$	++±	++	+	+	±	+++	++
19838	+++	+++	+++	+	—	+++	+++

Легко видеть, что нам удалось восстановить основные свойства *acidificantes* — культур, следовательно, изучаемые штаммы должны рассматриваться, как варианты.

4. Серологический анализ вариантов.

Восстановление у слизистых вариантов биохимических, морфологических и в значительной степени серологических свойств исходных культур протекало, таким образом, параллельно с исчезновением самой слизи и, естественно, стал вопрос о роли последней при наблюдаемых изменениях. — Сохранила ли бактериальная клетка вполне свои свойства и, вследствие резко выраженного слизевого „покрова" неспособна лишь выявить их, или же вариабильность обусловлена более интимными изменениями, связанными с самой протоплазмой.

Попытка разрешения этих вопросов в отношении биохимических процессов (определение наличия ферментов у инертных вариантов и пр.), будет сделана нами в другой работе. В настоящем сообщении коснемся лишь результатов серологического анализа.

Объектами этих опытов были два варианта — X_a производный штамма 19752 и C_{2a} — производный штамма 19838.

Обоими вариантами, также как и исходными культурами, были проиммунизированы кролики. Титры полученных моновалентных сывороток (*Sxa*, *SC₂a*, *S* 19838 и *S* 19752) представлены на табл. 4 и 5.

Табл. 4.

шт. 19752		*Моновал. сыв. шт. Xa_1*					
1/800 — 1/3200	1/6400	1/100 — 1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	K
±	±	+++	++	+	±	±	±
+	±	+++	++±	+±	+	±	±
+++	+++	+++	+++	++	+	—	

Табл. 5.

ыв. шт. 19838			*Моновал. сыв. шт. C_{2a}*						
/1600 — 1/3200	1/6400	K	от1/100— до 1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	K
±	±	±	+++	++	++	+	±	±	±
+	±	±	+++	+++	++	+	+	±	±
+++	++	—	+++	+++	+++	++	+	—	—

При первых же попытках проанализировать с помощью указанных сывороток рецепторный аппарат вариантов мы встретились с непреодолимым препятствием. Оказалось невозможным насыщать сыворотку исходного штамма соответствующим слизистым вариантом, так как при последующей агглютинации сама слизь тормозит реакцию, в чем можно было убедиться из следующего опыта.

Слизистые культуры смывались физиологическим раствором; микробная взвесь простоявшая 2 ч. при 37° и 18 ч. при комнатной температуре центрофугировалась, а жидкостью разводились моновалентные сыворотки исходных штаммов и вариантов. Затем ставился обычный опыт агглютинации этими сыворотками гомологичных штаммов (табл. 6). Оказалось, что слизь смыва совершенно затормозила реакцию с сывороткой исходного штамма *S* 19838 и в меньшей степени с сывороткой варианта C_{2a} [1]).

Аналогичный опыт и с теми же результатами проделан с слизью X_a и сыворотками *SXa* и *S* 19752. Следует заметить, что при первом взгляде на пробирки получается впечатление мелко-зернистой агглютинации, но микроскопически можно убедиться, что микробы все лежат отдельно и что комочки слизи маскируют результат реакции.

Прогревание смыва в течение 2-х часов при 100° уничтожает его тормозящее действие на реакцию агглютинации (табл. 6).

[1]) Некоторую разницу в действии сыворотки 19838 и C_{2a}, конечно, не трудно понять, если вспомнить, что последняя сыворотка получена с помощью слизистого штамма.

Действие слизи на

Сыворотка / Штаммы	Слизистым смывом					
	Сыв. 19838 (Смыв негретый)			Сыворотка C_{2a} (Смыв		
	1/100 — 1/3200	1/6400	K	1/100 — 1/200	1/400	1/800
19838	±	±	±	++±	++	+
Контроль (шт. 19838 с сывор. разв.) физ. раств. NaCl	+++	++	—	+++	+++	+++

Концентр. сыв. / Штамм	*Влияние на агглютинацию концен. сыв. при развед. ее слиз. смывом*							
	1/5 — 1/10	1/20	1/40	1/80	1/100 — 1/200	K_I	K_{II}	Прим.
19752	++±	++	+±	+	±	±	+++	K_I = смыв. жидк. + + эм. микр. шт. 19752. K_{II} = развед. физ. раствором 1 : 200 сывор. шт. 19752 + эм. микр. шт. 19752.

Дальнейшее наблюдение показало, что для проявления тормозящего действия слизи имеют значение определенные количественные отношения между сывороткой и слизистым смывом (табл. 7). При очень концентрированных сыворотках, до разведения $^1/_{50}$, тормозящее действие смыва либо почти совсем не сказывается (разведение $^1/_5$—$^1/_{10}$), либо лишь отчасти проявляется. С другой стороны, чем более разведен смыв при одной и той же концентрации сыворотки, тем слабее его тормозящий эффект, и при разведении смыва до $^1/_{100}$— почти не сказывается.

При свете описываемых явлений серологическая инертность изучаемых вариантов (табл. 2) представляется обусловленной в значительной степени наличием слизи и, следовательно, при условиях, несколько ослабляющих ее действие, можно было бы ожидать и повышения агглютинабильности наших штаммов. Требуемые условия создавались следующим опытом.

Из таблицы 5 следует, что слизистый вариант C_{2a} агглютинируется гомологичной „слизистой" сывороткой довольно сильно, в то время, как моновалентная сыворотка исходного штамма не оказывает на него никакого действия. Разница эта может быть обусловлена, в первую очередь, конечно, различием рецепторного

Табл. 6.

р. агглютинации.

штамма C_{2a}, разведены								
инегретый)				Сыв. C_{2a} (Смыв прогрет в течение 2 час. при 100°)				
1/1600	1/3200	1/6400	K	1/100 — 1/800	1/1600	1/3200	1/6400	K
±	±	±	±	+++	++	+	—	—
++	+	—	—					

Табл. 7.

Концентр. сыв. / Штамм	*Влияние на агглютинацию концен. смыва при одном и том же разв. сыв. (1 : 100)*						
	1/2 — 1/10	1/20 — 1/40	1/80	1/100 — 1/200	K_I	K_{II}	Прим.
19752	±	+	++	++±	+++	—	K_I = взятая концентрация сыв. 19752 в физ. раств. + эм. микр. шт. 19752. K_{II} = физ. раств. + эм. микр. шт. 19752

аппарата, но допустимо, что в некоторой степени здесь играет роль и ослабляющее действие „слизистой“ сыворотки на тормозящий эффект слизи.

Принимая во внимание также, что иммунная сыворотка, как известно, сильно сенсибилизирует бактерии к реакциям коагуляции, мы пришли к нижеследующей постановке.

Вариант C_{2a} обрабатывался 2 ч. при 37° „слизистой“ сывороткой в дозе, соответствующей границе ее действия, затем микробы подвергались действию сыворотки исходного штамма. И, действительно (табл. 8), слизистый вариант (C_{2a}) после сенсибилизации специфической „слизистой“ сывороткой ($SC.a$) агглютинируется сывороткой исходного штамма (S 19838) почти так же, как и гомологичной.

Специфичность этой реакции доказывается контролями, при чем с одной стороны для сенсибилизации применялась тифозная сыворотка, в остальном условия опыта те же, а с другой — сенсибилизированные „слизистой“ сывороткой бактерии подвергались действию тифозной сыворотки (табл. 8).

Небольшое повышение титра агглютинации и в этих контролях должно быть отнесено за счет неспецифического сенсибилизирующего действия иммунных сывороток вообще.

Таблица 8.

Агглютинация штамма C_{2a1}, сенсибилизированного при 37° в течение 2 часов

	Разведенной 1/1000 сывороткой C_{2a}				Разведен. 1/100 поливалент. тиф. сыв.		
	1/100	1/500 –1/900	1/1000	K	От 1/100 до 1/200	От 1/300 до 1/1000	K
Сыворотка штамма 19838	+++	++	+	±	+	+	±
Тифозная поливалентная	++	±	±	±			

Табл. 9.

Моновалентная сыворотка *Xa* истощена штаммом 19752.

Разв. сывор. / Штамм	1/100 — — 1/200	1/400	1/800	1/1600 — — 1/6400	K
19752	—	—	—	—	—
Xa	++	+±	+	±	±

Моновалентная сыворотка C_{2a} истощена штаммом 19838.

Разв. сывор. / Штамм	1/100 — — 1/200	1/400	1/800	1/1600 — — 1/6400	K
19838	—	—	—	—	—
C_{2a}	++	++	+±	+	±

Разв. сыв. / Штамм.	Сыв. *H*					Сыв.	
	1/200	1/400	1/800 — —1/1600	1/3200	K	1/800	1/1600
H	+++	+++	+++	+	–	+++	+++
B_3	+++	+++	+++	+	+	+++	+++
Y_3	+++	++	+	+	+	++	++

Те же опыты и с тем же результатом поставлены были с штаммом *Xa* и соответствующими сыворотками.

Дальнейший анализ действия слизи производился в направлении выявления специфичности этого феномена. Результаты будут изложены ниже при обсуждении данных изменчивости *coli*—штамма (табл. 11а).

Выяснив роль слизи вариантов в реакции агглютинации, мы произвели анализ рецепторного аппарата штаммов C_{2a} и *Xa*.

Сыворотки вариантов *Sxa* и SC_2a насыщались исходными штаммами (соотв. 19752 и 19838); обратного опыта насыщения исходных сывороток вариантами, к сожалению, произвести не удалось, — препятствием тому, как теперь ясно, служила слизистость изучаемых штаммов.

Результаты этих опытов (табл. 9) доказывают, что у слизистых вариантов *Xa* и C_{2a} качественно изменен рецепторный аппарат: оба штамма обладают дополнительным, по сравнению с исходными штаммами, рецептором.

II. Наблюдения над B. coli.

Объектом исследования служил штамм *coli H.*, полученный из Берлина от проф. Otto. *Coli H.* — биохимически и морфологически типичен. Культурально — несколько уклоняется от типа, — при росте в обычном мясо-пептонном бульоне обнаруживает наклонность к комковатому росту. Соответствующий бактериофаг *H* — моновалентен, титр его $1:10,^{8}$ резистентных колоний при действии в неразведенном виде на сенсибильную культуру не дает.

Методика. Техника основного опыта та же, что и в опытах с штаммами *B. dysent. acidific.*, с той только разницей, что бактериофаг прибавлялся к 50 *к/с* бульона только в одном разведении, при чем в одну колбу засевался штамм *coli H.*, очищенный 10-кратным пассажем через агаровые чашки, в другую же — в том виде, в каком был нами получен. Из обеих колб делались высевы на чашки *Endo*, при чем дальнейшей обработке подвергались лишь белые, неразлагающие лактозу колонии. Надобно заметить, что из бульона высевалось вообще большое количество резистентных к бактериофагу колоний, но лактозу — неразлагающих среди них было очень немного — от единичных до 10—15 колоний на чашке.

Детальной разработке подверглись лишь два штамма — один, названный нами B_3, выделенный на 3-й день из бульона с очищен-

Табл. 10.

B_3			Сыв. Y_3					
1/3200—1/6400	1/12800	К	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	К
+++	+++	±	+++	+++	+++	+++	++	—
+++	++	—	+++	++	++	+	±	±
+	±	±	++±	+±	+	+	+	

Специфичность тормозящего действия

Штамм. \ Развед. сывор.	Слизистым смывом $У_3$									
	Y_3			B_3				H	
	1/100	От 1/200 до 1/1600	К	1/200	1/400	От 1/800 до 1/3200	К	От 1/100 до 1/1600	К
Y_3	+±	±	±						
B_3				++	+±	+	+		
H								±	±
C_{2a}									
X_a									
19838									
19752									
B. typhi abd.									

ным *coli*-штаммом, и другой — резко слизистый Y_3, выделенный в аналогичных условиях, но в другом повторном опыте.

Морфология. Оба штамма росли на *Endo* белыми колониями, B_3 с ровными краями, Y_3 — с неровными. Колонии Y_3 состоят из грубых, толстых, часто двойных, заостренных палочек, подобно описанным Mannheim'ом и др. у резистентных к бактериофагу колоний некоторых *coli* — штаммов. На косом агаре — Y_3 рос слизисто, довольно скудно; на бульоне же — осадком, при взбалтывании мути не было, а лишь слизистая взвесь.

Другой вариант B_3, как уже упомянуто, — не слизистый штамм. Колонии его состояли из палочек того же характера, что

Специфичность действия

Штаммы. \ Развед. сыв.	Слизистым смы					
	Сыв. 19752		Сыворотка *Xa*			
	От 1|100 до 1/6400	К	1/100	1/200	От 1/400 до 1/6400	К
19752	±	±	++±	++	±	±
Xa			++±	+	±	±
Тифозн.						
H						

Табл. 11.

слизи на р. агглютинации

разведены сыворотки

C_{2a}		X_a		19838			19752		Тифозная	
От 1/100 до 1/3200	К	От 1/100 до 1/1600	К	От 1/100 до 1/3200	1/6400	К	От 1/100 до 1/3200	К	От 1/100 до 1/6400	К
+	+	+	+	+++	++	±	+++	±	+++	∓

и палочки Y_3, но уклонения от типа были меньше выражены. Культурально — штамм B_3 ничем не отличался от исходного *coli H*.

Биохимические свойства. B_3 — лактозо-дефективный штамм, в остальном не уклоняется от типа, Y_3, наоборот, почти инертен, разлагает лишь немного мальтозу. Но Y_3 — резко-слизистый штамм и потому все соображения, приведенные при анализе слизистых вариантов *B. dysent. acidificant.*, всецело применимы и при оценке характера ферментативной инертности и Y_3.

Агглютинабильность. Для определения серологических особенностей изучаемых штаммов, проиммунизированы кролики исходной *coli*-культурой и обоими вариантами. Титр всех трех

Табл. 11а.

слизи на р. агглютинации

в о м *Xa* р а з в е д е н ы.

Тифозн. сыв.		Сывор. *H*	
От 1/100 до 1/6400	К	От 1/100 до 1/6400	К
+++	±	±	∓

Штамм. \ Развед. сыв.	Сыворотка 19752				Сыворотка *Xa*				
	1/100—1/400	1/800	1/1600	К	1/200	1/400	1/800	1/1600	К
H	+	±	±	±	+++	++	+	+	±
B_3	+	+	+	+	+++	+++	++	±	±
Y_3	+	+	+	+	++	+±	+	+	+

сывороток по отношению к изучаемым штаммам представлен на табл. 10. Следует отметить, что сильнее всех оказалась сыворотка B_3, не только по высоте титра (как то видно из таблицы), но и по быстроте проявления реакции. Уже на холоду, через несколько минут, в первых пробирках сыворотка B_3 резко агглютинирует исходный штамм *coli H*. То же, но в меньшей степени относится и к сыворотке другого варианта. Слизистый вариант Y_3 агглютинируется довольно слабо, как гомологичной, так и остальными сыворотками, объяснение чему, как нам теперь понятно, надо было искать в резкой слизистости этого варианта. И, действительно, предварительно поставленные опыты в условиях, описанных при опытах с штаммами *dysent. acidificantes*, обнаружили задерживающее действие отцентрофугированного смыва слизи Y_3 на агглютинацию исходного штамма гомологичной сывороткой. Тогда, при наличии слизистых вариантов 2-х различных родов и соответствующих сывороток, создались условия для разрешения поставленного выше вопроса о специфичности тормозящего действия слизи.

Отцентрофугированным смывом *coli* — варианта (Y_3) разводились моновалентные сыворотки, как соответствующие исходному *coli* — штамму и другому варианту (B_3), так и штаммам (19838 и 19752) и их вариантам (C_{2a} и X_a). В качестве контроля в опыт вводилась еще и тифозная сыворотка. Со всеми перечисленными разведенными сыворотками и им соответствующими штаммами поставлена реакция агглютинации.

Аналогичный же опыт был поставлен с смывом *B. dys. acidificantes* — варианта X_a.

Результаты, представленные на табл. 11 и 11а, с несомненностью указывают на специфичность тормозящего действия слизи на реакцию агглютинации. Слизь *coli* — варианта задерживает агглютинацию родственных бактерий и не оказывает никакого действия на агглютинацию наших дизентерийных и тифозных культур. С другой стороны слизь *acidificantes* — варианта также тормозит реакцию в пределах этой группы.

С точки зрения установленной специфичности действия слизи привлекает особое внимание тормозящий эффект смыва *coli* — вари-

Табл. 12.

Сыворотка 19838				Сыворотка C_{2a}					
1 200	1/400	1/800—1/1600	К	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	К
+	±	—	—	+++	++	+	+	+	±
+	+	+	+	+±	+	±	±	—	—
+	+	+	+	+++	+++	++	++	+	+

анта (Y_3) на реакцию агглютинации *acidificant.* - вариантов соответствующими моновалентными сыворотками (C_{2a} и X_a).

В самом деле, *coli* — слизь, действие которой повидимому вполне специфично, не влияет на реакцию между *исходными acidificantes* — и тифозной сыворотками и гомологичными штаммами, а в то же время эффект сывороток *acidificantes* — *вариантов* она тормозит в реакции агглютинации точно так же, как и родственных *coli* — сывороток. Не появилась ли в процессе вариабильности у производных *acidifcantes* — штаммов какая либо серологическая связь с *coli* — вариантами. С этой целью поставлен опыт агглютинации культуры *coli H.* и ее вариантов сыворотками исходных *acidifcantes* — штаммов и их производных, и наоборот, сыворотками *coli H* и Y_3 агглютинировались *acidificantes* — штаммы (табл. 12 и 13). Результаты говорят за повышение у вариантов *acidifcantes* серологической связи с *исследуемыми coli* — штаммами, в особенности с *coli* — вариантом Y_3 (табл. 13). Опыт же насыщения по Castellani (табл. 14), где сыворотки *acidificantes* — варианта X_a насыщались с одной стороны исходным — штаммом (19752), а с другой — *coli H.*, свидетельствует, что связь эта как будто бы специфического характера, а не обусловлена феноменом парааглютинации. Однако, для более определенных выводов материал, сюда относящийся, еще мало разработан и мы ограничиваемся пока лишь констатированием факта.

Табл. 13.

Разв. сыв. / Штамм	Сыворотка *H*					Сыворотка Y_3					
	1/100	1/200—1/400	1/800—1/1600	К		1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	К
19838	++	+	—	—		+	±	—	—	—	—
19752	+	—	—	—		++	+++	+	±	—	—
Xa	+	+	+	+		+++	++	+	+	+	+
C_{2a}	+	+	+	+		+++	++	+	+	+	+

Табл. 14.

Штамм	Разв. сыв.	Моновалентная сыворотка *Xa*										
		Истощена штаммом 19752					Истощена штаммом *H*					
		1/100—1/200	1/400	1/800	1/1600—/3200	К	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600—/3200	К
19752		—	—	—	—	—	++	++	++	++	+	—
Xa		++	+±	+	±	±	++	+	+	±	±	±
H		++	+	+	±	±	±	±	±	±	±	±

Штаммы	Разв. сыв.	Сыворотка *H*							
		Истощена *H*				Истощена B_3			
		1/200	1/400	1 800—1/3200	К	1/200	1/400	1 800 — 1 3200	К
H		±	±	±	±	++	+±	±	±
B_3		++	+	±	±	±	±	±	±

Серологический анализ coli — вариантов. Нам остается сказать лишь о результатах анализа рецепторного аппарата производных *coli H.*

В опыте Castellani сыворотка исходного штамма была истощена варинтом B_3 и наоборот (опыта насыщения сывороток слизистым вариантом Y_3, по понятным причинам, поставить нельзя было).

Результаты даны в табл. 15. — Они доказывают, что помимо общих с исходным штаммом рецепторов, вариант B_3 обладает еще и дополнительным. То же обнаруживается и при анализе сыворотки слизистого варианта Y_3. Культура *coli H.* не выхватывает из нее всех агглютининов (табл. 16), другой же, неслизистый вариант B_3 истощает ее всецело. Следовательно, согласно рецепторному анализу, оба варианта серологически идентичны, и оба, в отличие от исходного штамма, обладают еще дополнительным рецептором.

Обсуждение.

Изложенный экспериментальный материал с несомненностью говорит о наличии *истинной* вариабильности у изучаемых культур.

Появлявшиеся в начале работы соображения об *исключительной* зависимости биохимической и серологической изменчивости от слизе-образования наших вариантов, повидимому, не оправдались.

Правда, для суждения о характере биохимической вариабильности мы не располагаем необходимым экспериментальным материалом; отсутствие прямых опытов в этом направлении не позволяет делать какого бы то ни было заключения о наличии истинных изменений в ферментативной деятельности клетки, однако, некоторые результаты наших исследований дают повод думать, что вопрос разрешится в положительном смысле. — Один из вариантов *coli H.* — B_3, видимо, совершенно неслизистый, во всяком случае в этом смысле ничем не отличается от исходного штамма, а между тем одна из типовых функций кишечной палочки — разложение лактозы — у него отсутствует. Допущение же, что B_3 только *видимо* неслизистый штамм, что слизь им образуется, но в количествах

Табл. 15.

Сыворотка B_3							
Истощена B_3			Истощена H				
1/100	1/200—1/1600	К	1/100	1/200	1/400—1/800	1/1600	К
±	±	±	±	±	±	±	±
+±	+	+	++±	++	+±	±	±

Табл. 16.

Штаммы \ Разв. сыв.	Сыворотка Y_3							
	Истощена H				Истощена B_3			
	1/200	1/400—1/800	1/1600—1/3200	К	1/200—1/400	1/800—1/1600	1/3200	К
H	—	—	—	—				
B_3					+	±	±	±
Y_3	++	+	±	±	+	±	±	±

малых, нами не учитываемых, и в соответствии с этим невелики по сравнению с резко-слизистым вариантом и дефекты в ферментативной деятельности, — это допущение нам кажется мало обоснованным. В самом деле, в той же мере это предположение может относиться и к каждому нормальному штамму вообще, ибо, как мы уже ска-

зали, видимо, и культурально исходный *coli H.* и его вариант B_3 ничем друг от друга не отличались.

Более определенны результаты наших опытов для серологической характеристики изменений вариантов.

Опыты истощения по Castellani сывороток вариантов исходными штаммами, а также и обратный эксперимент (как это имело место при серологическом анализе неслизистого *coli* — варианта B_3) с очевидностью доказали изменения в рецепторном аппарате, как *acidificantes* — вариантов, так и *coli* — вариантов, а именно, у последних появился добавочный рецептор, что вполне согласуется с результатом аналогичных наблюдений Kaufmann'a [1]) над изменчивостью резистентных к бактериофагv *coli*-штаммов.

Далее, из тех же опытов ясна полная серологическая идентичность слизистого и не слизистого *coli* — вариантов и, следовательно, наши результаты серологического анализа должны расцениваться вне зависимости от слизеобразования. Но эти элементы *истинной* изменчивости у слизистых вариантов представляются при первом наблюдении значительно преувеличенными, доведенными до предела (микробы кажутся инертными биохимически и серологически), благодаря феномену слизеобразования.

Значение слизеобразования, при реакции агглютинации, отмечалось при вариабильности микробов уже очень давно. Еще в 1906 г. Hefferen, изучая изменчивость *B. prodigiosus*, отмечала слизистые, слабо агглютинабильные формы. Позднее немного Paltauf и Porges впервые установили зависимость плохой агглютинабильности капсульных микробов от их слизистой капсулы. Бесслизистые варианты этих бактерий агглютинировались хорошо сывороткой, почти совершенно инертной для слизистых форм.

С развитием учения о бактериофагии все чаще описываются слизистые формы вариантов микробов и постоянно отмечается их плохая агглютинабильность (или даже потеря этого свойства) типовыми сыворотками (Bordet, Höder, Kaufmann и мн. др.), но центр тяжести при этом обычно переносится на „механическую", так сказать, причину. Клетка окружена слизью, и это мешает ее соединению с антителами — предположение, высказываемое Kaufmann и др. Указаний же на подробный анализ действия слизи вариантов в доступной литературе мы не нашли [2]).

Наш же экспериментальный материал свидетельствует, что значение слизи далеко не ограничивается „механической" ролью.

В самом деле, слизь одного и того же *acidificantes* — варианта тормозит реакцию агглютинации родственных микробов и не действует совершенно на тифозные — а между тем „механическое" действие слизи в обоих случаях должно было, казалось, быть одинаковым. Далее, одно и то же количество слизи *acidificantes* —

[1]) Zeitschr. f. Hyg. f. etc. T. 106, стр. 520. 1926 г.

[2]) Правда, американским авторам (Julianelle, Heidelberger и др.) удалось изолировать из слизистой капсулы B. Friedländer углеводистое вещество, являющееся по их мнению носителем типовой специфичности, но результаты наблюдений над капсульными микробами не могут, нам думается, целиком применяться для выяснения характера слизи у вариантов.

варианта, как то следует из таблицы 7, задерживает агглютинацию родственных микробов при определенной концентрации сыворотки и не оказывает никакого действия при реакции с менее разведенной, а между тем слой слизи, разделяющий бактерии и сыворотку, один и тот же.

Все эти данные говорят о более сложной роли слизи в описываемых явлениях.

Прямых опытов для выяснения сущности роли слизи при агглютинации соответствующих штаммов, поставлено не было, но специфичность ее действия, а также и значение количественных отношений между сывороткой и слизью, дают основание предположить, что антигенные свойства культур распространяются и на слизь.

Применительно к нашей постановке опыта (табл. № 6) возможно предположить, что слизь смыва при разведении им сыворотки (следует помнить, что разведенная сыворотка стоит 2 ч. при 37° и 18 ч. на холоду) адсорбирует значительное число агглютининов, что, естественно, обусловливает отрицательный результат последующей реакции агглютинации.

В свете излагаемых фактов должны, нам думается, подвергнуться переоценке многие результаты серологических анализов слизистых вариантов.

И наконец нам думается, что примененная методика сенсибилизации слизистых вариантов (см. табл. 8) с целью „преодолеть" их слизевой покров и сделать их доступными действию исходной сыворотки, может быть плодотворной при диагностике выделяемых из организма мало- или почти неагглютинирующихся штаммов.

Значение приведенного экспериментального материала для эпидемиологии и систематики вряд ли нуждается в пояснении. Наряду со многими уже известными литературными данными, наши результаты обязывают, нам думается, к сугубой осторожности при систематизировании микробов на основании типовых ферментативных и серологических свойств.

В заключение отметим, что настоящая работа лишь первый этап наблюдений над вариабильностью микробов. Ограничивается ли изменчивость бактериальной клетки только описанными вариантами, или процесс идет глубже — вопросы, подлежащие исследованию в дальнейшей работе.

Оскару Оскаровичу Гартоху за постоянную, чрезвычайно ценную помощь приносим мы глубокую благодарность.

О вакцинации против мыта.

Л. Л. Кандыба и И. Я. Садовский.

Из 1-го Украинского Санитарно-Бактериологического Ин-та им. И. И. Мечникова и Военно-Ветеринарной Бактериологической Лаборатории УВО, Харьков.

1. Иммунитет к мыту у жеребят, подкожно привитых стрептококком.

Из работ Schütz'a, относящихся еще к восьмидесятым годам прошлого столетия, известно, что подкожная инъекция культур мытного стрептоккока вызывает у жеребят местное переболевание в виде абсцесса с некрозом ткани, у чувствительных животных переходящее в смертельный сепсис. При этом, однако, у привитых жеребят не наблюдается симптомов типичной мытной инфекции. Позднейшими исследованиями R. Pfeiffer и O. Müller (1912 г.) установлено, что интравенозная инъекция мытной стрептококковой культуры приводит к смертельному сепсису с многочисленными гнойными очагами в органах, также без признаков мыта, как инфекции с определенным циклическим течением. С другой стороны типичная инфекция, как правило, вызывается нанесением культур стрептококка на слизистые оболочки носовой полости и зева, в особенности при их скарификации, равно как скармливанием кормом или водой, инфецированными культурами (Schütz [1]), Poelz [2]), Sand u. Jensen [3]), Pfeiffer u. O. Müller [4]) Габричевский [5]), С. И. Златогоров, Л. Л. Кандыба и И. Я. Садовский [6]), Richter [7]).

Интересный, вскользь намеченный литературой по мыту, вопрос о невозможности получения мыта подкожной инъекцией вирулентной культуры нами разрабатывается в настоящее время с точки зрения его объяснения, и в наших дальнейших сообщениях мы еще к нему вернемся. В настоящей работе нас интересует другой, сам собой напрашивающийся, но к удивлению никем не поднятый вопрос, именно, вопрос об иммунитете к мыту у жеребят, перенесших местный процесс после подкожной инъекции культуры стрептококка.

Наши материалы таковы:

1. В 1927 г. мы работали по местной иммунизации жеребят против мытного стрептококка. Работа заключалась в дермальной иммунизации отдельных кожных участков различными препаратами (токсином, токсоидом, антивирусом и пр.) с последующим испытанием иммунитета каждого участка в отдельности подкожной

инъекцией вирулентной культуры стрептококка. Под опытами состояли, в числе прочих, 7 жеребят, не болевших мытом: №№ 24, 25, 27, 28, 36, 39 и 40. В результате подкожной прививки стрептококка, всего на 6 кожных участках до 3,0 к. с. суточной сывороточно-бульонной культуры, у жеребят развивались на ряде участков, (на контрольном, токсинном, иногда иммунизированных токсоидом и антивирусом) абсцессы, различной величины и длительности течения. Так у жеребенка № 24 на контрольном необработанном участке развивается флегмонозный инфильтрат, размером 10×12 см., впоследствии перешедший в абсцесс с некротическим центром 3×5 *см.*, а на 2-х из числа 5 иммунизированных участков, абсцессы размером с голубиное яйцо. У жер. № 36 — только на контрольном участке — абсцесс размером с волошский орех с центральным некрозом $1^1/_2 \times 1^1/_2$ *см.*; у жеребенка № 39 — абсцессы различной величины на 4-х из 6 участков с максимальным выражением на контрольном, как и у жеребенка № 40, причем у последнего все абсцессы носят некротизирующий характер. Жеребята №№ 25, 27 и 28, привитые на одном из кожных участков фильтрованным через дефективную свечу и несвободным, вследствие этого, от стрептококка, токсином, перенесли длительную, более месяца, блуждающую флегмону с абсцессами в самых разнообразных местах тела, доходивших до размеров детской головки, сопровождавшуюся лихорадкой и исхуданием. Жеребенок № 25 погиб от сепсиса.

Ни один из жеребят, в том числе и те, которые перенесли тяжелую флегмону, как №№ 27 и 28, не проявили, однако, никаких признаков мыта, как инфекции: никаких явлений со стороны слизистых верхнего дыхательного тракта и лимфатических желез головы и шеи не наблюдалось.

Спустя, примерно, полгода после описанных опытов в конюшне, где находились жеребята, произошла вспышка естественного мыта, охватившая одного за другим 6 жеребят: 4-х свежих, не болевших до того и не бывших ни под какими опытами, и 2-х кожно-иммунизированных [1]) большими дозами токсина. *Ни один из 6 перенесших подкожную прививку стрептококка жеребят за время этой 3-й месячной эпизоотии, несмотря на тесный контакт с больными, не заболел.* Следует особо отметить жеребенка № 36, получившего активный иммунитет к мыту после сравнительно ничтожного местного процесса.

2. В марте — апреле 1928 г. при работе по другому поводу, 2 жеребенка, не болевших мытом, №№ 47 и 50 были привиты в кожу спины ничтожными дозами токсина с незначительной примесью живого стрептококка. Последовал местный воспалительный процесс, закончившийся блуждающею флегмоной: образовались абсцессы на пахах, на бедрах и пр.; жеребята высоко-лихорадили в течение месяца. *Как и в предыдущей серии опытов, оба жеребенка мытом не заболели.*

Спустя 3 недели, после заживления местных явлений, №№ 47 и 50 были переведены в конюшню с мытными жеребятами и размещены в одном деннике с больными в условиях тесного контакта [2]). Жеребята не заболели. Спустя еще месяц, оба жеребенка наряду с другими подъопытными, в том числе с одним свежим в качестве контроля, были *массивно* заражены вирулентной культурой стрептококка: заражение каждого жеребенка производилось путем втирания культуры в слизистые обеих носовых полостей стерильной зубной щеткой, пульверизацией культуры на те же слизистые и скармливания с овсом 4,0 к. с. культуры. Тем не менее оба жеребенка *совершенно не реагировали на заражение*, тогда как контроль опыта (№ 53) заболел в надлежащий срок и погиб в дальнейшем от мыта.

---

[1]) Жеребята иммунизировались дермальными инъекциями стрептококкового токсина. См. И. Я. Садовский. Микроб. Журнал, т. VI. Вып. 3. 1928 г.

[2]) Вся работа по мыту производилась в обстановке, исключающей возможность внутриконюшенной инфекции, а именно: конюшни лаборатории были разделены на 3 совершенно изолированные друг от друга отделения, в одном из которых размещались здоровые жеребята, в другом — экспериментальные и в третьем — заболевшие мытом. В отделения были назначены отдельные уборщики. Кроме того, отдельные группы жеребят, в соответствии с характером опыта, размещались в экспериментальном отделении изолированно друг от друга при отдельных уборщиках. Экспериментальное отделение тщательно дезинфецировалось после каждого опыта. Время от времени производилась общая дезинфекция всех

Таким образом, подтверждая старые данные Schütz'a, мы устанавливаем, что подкожная инъекция культур мытного стрептококка, вызывая у жеребят местный процесс в виде абсцесса или флегмоны, но не мыт, влечет за собой практически полный иммунитет к мыту.

II. Активная иммунизация к мыту антивирусом и живым стрептококком.

При работе по местной иммунизации на жеребятах, мы убедились в возможности получения иммунитета отдельных кожных участков к подкожному заражению стрептококком путем дермальной иммунизации специфическим антивирусом (токсоидом) [1]).

Сопоставление факта активного иммунитета у жеребят, подкожно привитых стрептококком, с возможностью иммунизировать против подкожного заражения естественно выдвигает вопрос о комбинированном методе иммунизации к мыту: дермальная обработка кожи антивирусом и последующее введение в обработанные участки живого стрептококка. Сущность вопроса заключается в выяснении степени необходимости местной реакции. Иными словами, возможен ли активный иммунитет после подкожного заражения стрептококком при ликвидации или ослаблении местной реакции предварительной иммунизацией кожи антивирусом?

Практическая целесообразность постановки данного вопроса усматривается в том, что старое предложение Sand-Jensen об активной иммунизации к мыту путем подкожной прививки живым стрептококком не нашло применения в виду небезопасности манипулирований с живыми культурами.

В указанном направлении нами поставлены нижеследующие 2 серии опытов, по 4 жеребенка в каждой.

1-й опыт. Опытный материал. Жеребята №№ 68, 69, 70. Возраст — 7 месяцев. Мытом не болели.

Поступили в лабораторию из воинской части, где находились под непрерывным ветеринарным надзором 17/XI — 28 г.

Иммунизация — 28/XI — 28 г. жеребята иммунизированы стрептококковым токсоидом (антивирусом). Токсоид готовился из 6-ти дневных культур стрептококка на бульоне Aldershoff с 1% дефибринированной лошадиной крови. Для иммунизации служил прогретый в течение часа при 60° С, фильтрованный через свечу Berkefeld'a N токсин. Препарат вводился дермальными инъекциями *en parpe* по 0,2—0,4 к. с. в каждый пункт, всего 5,0 к. с. на каждый кожный участок в 100 *кв. см.* в среднем. Подобным образом иммунизированны у жеребенка № 69—6 участков, № 68—2 участка и № 70 — 1 участок.

Спустя 3 дня иммунизированные участки привиты под кожу суточной сыв.-бульон. (Aldershoff'a) культурой вирулентного стрептококка (мытный штамм № 500), именно: все 6 участков жеребенка № 69 — по 0,5 к. с. культуры на участок, при чем культура наносилась распыленно в 5-ти пунктах по 0, 1 к. с.; аналогично заражен единственный участок у № 70; оба участка у № 68 зара-

конюшен. Опытные жеребята получали для водопоя стерильные ведра. Отдельно по отделениям размещался фураж. Перечисленные мероприятия, введенные с осени 1927 г., привели к полному прекращению внутриконюшенных инфекций, до того имевших место.

[1]) Л. Л. Кандыба и А. Я. Садовский. Опыты местной иммунизации жеребят к стрептококку. Микробиолог. Журнал, 1930 г.; Annales de l'Institut Pasteur, № 12, 1929.

жены по 1,0 к. с. культуры в один пункт. Таким образом введено № 68—2 к. с., № 70—0,5 к. с. и № 69 — 3 к. с. культуры.

Местные явления. 1) Жеребенок № 68. К 4/XII на спинном участке выраженный инфильтрат по диагонали, достигающий еще через 3 дня размеров 8 × 8 *см*. К 20/XII на этом участке вызревает абсцесс с волошский орех. Плечевой участок 17 декабря представляется совершенно нормальным, затем быстро формируется мало болезненный, плотный, плоский инфильтрат, выступающий к 19/XII за пределы участка, а к 22/XII дающий ясно приподнятую припухлость 10 × 10 *см*; к 27/XII формируется мягкий инфильтрат с куриное яйцо, размер которого, уменьшаясь, доходит до лесного ореха; наконец, 29 января — 29 г. местный процесс разрешается незначительным абсцессом. Температура все время нормальна. Жеребенок сильно исхудал.

2) Жеребенок № 69. К 7/XII формируются плотные мало болезненные инфильтраты, размером от волошского ореха до куриного яйца, числом 2—3 на участке. В дальнейшем все инфильтраты подвергаются обратному развитию. Все приходит к норме 27/XII. Температура все время нормальна.

3) Жеребенок № 70. К 3/XII на участке появляются 2 инфильтрата с куриное яйцо, к 7/XII оба инфильтрата уже уменьшены до размеров волошского-лесного ореха. К 14/XII один инфильтрат рассосался; второй разрешился поверхностым ничтожным нагноением (22/XII). Температура все время нормальна.

Испытание иммунитета. 6/III 1929 г. с целью испытания иммунитета жеребята №№ 68, 69, 70 и контрольный жеребенок № 75 массивно заражены втиранием в слизистые носа смеси суточных сыв. культур 4-х штаммов мытного стрептококка (2-х от экспериментально зараженных жеребят и 2-х от лошадей с естественным заболеванием), — одновременно скармливанием с овсом по 2,0 к. с. предыдущей смеси культур и 5,0 к. с. разведенного физиол. раствора мытного гноя от лошади с естественным заболеванием.

Все 4 жеребенка заболели в надлежащие сроки и переболели мытом с типическим симптомокомплексом.

II-й опыт. Опытный материал. Жеребята №№ 76, 77 и 78 в возрасте 7 месяцев. Мытом не болели. Первый поступил в лабораторию из военной части 21/III 1929 г., 2 другие — 29/III — 1929 г. В воинских частях жеребята находились под непрерывным ветеринарным надзором.

Иммунизация. Взамен токсоида для данного опыта взят поливалентный мытный антивирус, приготовленный по Безредка. 22/III иммунизированы по описанной методике (8—10 к. с.) 4 участка у жер. № 76; 30/III — 4 участка у жер. № 77 и 3 участка у жер. № 78. Спустя 3 дня после иммунизации каждый участок заражен под кожу „распыленным методом“ 0,5 к. с. смеси суточной сывороточно-бульонной культуры свеже-выделенных штаммов мытного стрептококка, из них *3 свеже-выделенных* от экспериментально зараженных жеребят (№№ 68, 69 и 70) во 2-й генерации после выделения.

Местные явления. № 76. — К 30/III на всех участках выступают плотные инфильтраты, размером с волошский орех — куриное яйцо, числом 1—3 на участке. 4/IV на одном из участков вскрылся абсцесс с волошский орех с незначительным центральным некрозом; 8/IV и на другом сформировались 2 абсцесса с лесной орех: на остальных 2-х участках остаются в общем 3 инфильтрата с волошский орех, которые в дальнейшем подвергаются обратному развитию,—на одном к 11/IV, а на другом— к 20 апреля. Слегка лихорадят, не свыше 39° С, до 15/IV. Со стороны слизистых верхнедыхательного тракта, лимфатических желез головы и шеи—никаких явлений.

№ 77.—К 6/IV на 3-х участках формируются плотные инфильтраты, числом 4—5 на каждом, размером не более волошского ореха, на 4-м участке—сплошная флегмонозная инфильтрация. 8/IV состояние участков таково: на одном — 4 абсцесса с волошский орех, на другом — 5 инфильтратов такой же величины, из них 2 уже нагноились, на третьем — 4 подобных инфильтрата, из коих 2 абсцедировали, на пятом—5 инфильтратов, из них 3 нагноились; гнойное отделение обильно, при чем обе стороны шеи вымазаны гноем. К 10/IV нагноились все прочие инфильтраты, а к 13/IV абсцессы на всех 4-х участках уже подсыхают; остаются лишь центральные некротические места, размером до $1^1/_2 \times 1^1/_2$ *см.*, ограниченные красно-черной зоной воспаления. В дальнейшем местный процесс приобретает характер блуждающей флегмоны: уже 15/IV на обеих сторонах подгрудка образуются плотные огромные инфильтраты; 18/IV вскрывается абсцесс у холки; к 22/IV опухоли у подгрудка достигают размеров детской головы и в дальнейшем абсцедируют с колоссальным и длительным гноеотделением. 13/V — жеребенок здоров, но сильно истощен. Все время с начала заражения высокая лихорадка (до 40,4°)

Со стороны слизистых носа и лимфатических желез—никаких явлений.

№ 78.—Местный процесс носит в общем такой же характер, как у № 77: те же многочисленные абсцессы на участках, та же блуждающая флегмона с образованием абсцессов вне участков на шее, у подгрудка. Лихорадка носит более умеренный характер, чем у № 77, истощение не так сильно. Как и № 77, несмотря на обильное рассеивание с гноем стрептококка, клинически мытом не заболел.

Испытание иммунитета. Испытание было произведено для жеребенка № 76 *в естественных условиях заражения*; для жеребят №№ 77 и 78, в виду перенесения ими тяжелой флегмоны—путем экспериментального заражения. 21/IV № 76 поставлен в один денник с больным № 89: *мытом не заболел.* 20/V вновь поставлен с больным № 79 (гнойный ринит, абсцессы подчелюстных желез), а 24/V — с больным № 83; *мытом не заболел.* 14/VI № 76 был вместе с №№ 77 и 78 подвергнут экспериментальному массивному заражению путем втирания в слизистые носа смеси сывороточно-бульонных суточных культур 5 свеже-выделенных штаммов мытного стрептококка и скармливания с овсом 2,0 к. с.

той же смеси. *Ни один из жеребят не реагировал на заражение.* Контроль опыта (жеребенок № 84) заболел мытом в надлежащий срок.

* * *

Мы видим прежде всего из протоколов приведенных опытов, что подкожная инъекция вирулентных, свеже-выделенных, безусловно заразительных при нанесении на слизистые оболочки носа и зева стрептококковых культур не вызывает мытных симптомов, несмотря на оптимальные условия заглатывания огромных количеств стрептококка вместе с гноем, исходящим из тяжелых длительных флегмон, вызванных тем же стрептококком (№№ 77 и 78). Вся остальная работа, кроме того, заставляет думать, что жеребята, перенесшие местный процесс, *не болея сами мытом, не заражают других чувствительных жеребят*, так как мы ни разу не наблюдали контактной инфекции от таких жеребят. Этот важный и глубоко интересный вопрос получил уже в настоящее время положительное экспериментальное разрешение (С. И. Златогоров. Л. Л. Кандыба и И. Я. Садовский), о чем подробно мы сообщим в другом месте.

Основные результаты наших опытов заключаются в том, что в первой серии мы не получили иммунитета ни у одного из трех привитых комбинированным методом жеребят, тогда как все три жеребенка второй серии оказались иммунными.

Из протоколов опытов видно, что вторая серия ставилась в несколько измененных условиях, а именно: 1) моновалентный токсоид первого опыта заменен во втором — поливалентным антивирусом, приготовленным по Безредка; 2) для подкожной прививки иммунизированных участков кожи живым стрептококком — в первом случае был взят штамм № 500, сохранявшийся в среде Ungermann в течение, примерно, года с момента выделения, но вирулентного для кролика, свинки и кошки, тогда как во втором случае применена смесь 5 свеже-выделенных штаммов; и, наконец, 3) в первой серии испытание иммунитета произведено у всех жеребят, независимо от характера местной реакции, путем *массивного экспериментального заражения*, во второй же серии метод испытания иммунитета дифференцирован в зависимости от характера местной реакции у подъопытных жеребят, именно — контактное заражение (трижды последовательно повторявшееся), для жеребенка № 76 с относительно слабой местной реакцией после подкожной прививки и экспериментальное массивное заражение для №№ 77 и 78, перенесших флегмону. Разберем все эти обстоятельства с точки зрения их возможного значения.

Замене токсоида антивирусом не следует приписывать какой-нибудь роли вследствие равнозначности их иммунизаторных свойств, как это мы установим в нашей работе по вопросу о природе антивируса [1]). Сам по себе антивирус не обладает предохранительными

[1]) Л. Л. Кандыба и И. Я. Садовский. Стрептококковый токсин и антивирус. Микроб. Журнал. Т. VIII. Вып. 1, 2 и 3.

свойствами. Одному из нас (Садовский) [1]) принадлежит большая работа в этом направлении. Вопрос о значении штамма для подкожной прививки является, конечно, более сложным. Но, если вспомнить, что жеребята №№ 24, 27, 28, 36, 39 и 40 прививались под кожу штаммом № 500 и что все эти жеребята оказались иммунными при естественной эпизоотии мыта, если принять во внимание, что по нашим материалам мытный стрептококк длительно сохраняет мытно-патогенные для жеребят свойства и что годовая консервация стрептококка не могла сказаться в смысле уменьшения его вирулентных свойств (№ 500 до настоящего дня сохранил вирулентность для лабораторных животных), то роль этого фактора в выработке иммунитета к мыту не может быть признана основной. Остается третье обстоятельство—*метод испытания иммунитета.*

Из протоколов опытов мы видим, что все без исключения жеребята, подвергнутые естественному контактному заражению (№№ 24, 27, 28, 36, 39, 40, 47, 50 и 76), оказались иммунными, независимо от примененных для подкожной иммунизации штаммов и независимо от степени местной реакции: первые 6 жеребят прививались лабораторным штаммом № 500, №№ 47 и 50 лабораторным штаммом № 431 и № 76 — смесью свежих штаммов. Что же касается местной реакции, то она носит у испытанных жеребят самый разнообразный характер — от небольшого абсцесса у № 36 и сравнительно слабых воспалительных явлений у № 76 до бурных флегмон у №№ 24 и 28. Таким образом, при испытании невосприимчивости к мыту путем контактного метода, иммунитет обнаружили и жеребята, легко перенесшие прививку стрептококка без развития большого гнойного процесса.

С другой стороны, среди жеребят, испытанных экспериментальным массивным заражением, 3 жеребенка (№№ 68, 69 и 70), давшие слабую местную реакцию (незначительные абсцессы только у одного) оказались восприимчивыми к мыту. В то же время, 2 жеребенка, реагировавшие на введение стрептококка флегмоной, оказались иммунными, как и следовало, впрочем, ожидать.

Вопрос, следовательно, разрешается таким образом, что привитые комбинированным методом (антивирус+стрептококк) жеребята активно иммунизируются против естественного заражения в условиях естественной контактной инфекции; иммунитет же в смысле нечувствительности к массивному заражению получается только в результате перенесения тяжелых местных флегмоновых явлений.

К сожалению, среди жеребят, подвергавшихся контактному заражению, нет ни одного, у которого реакция на введение стрептококка была бы выражена только инфильтрационным процессом в коже; правда, у некоторых реакция дошла до развития маленьких абсцессов, величиною с лесной орех ничтожного элиминационного характера.

Это обстоятельство не позволяет нам в настоящее время высказаться категорически о возможности получения активного

[1]) Работа не публиковалась.

иммунитета при полной ликвидации местных явлений после подкожного внесения живого вируса с предварительной иммунизацией антивирусом.

Как известно, в настоящее время не существует ни одного метода активной иммунизации к мыту, который получил бы признание практики. Не касаясь большого вопроса об активной иммунизации к мыту с помощью убитых стрептококков (вакцины Kitt, Marxer'a, Schreiber'a, Baruchello, Preiffer'a и Müller'a, Габричевского) [8]), мы можем судить о ценности этих методов по их практической непригодности. Недавно опубликованные экспериментальные работы Гурвича [9]) и Richter'a [7]) также не изменили этого положения: первый получил отрицательные результаты в опытах с вакциной по Габричевскому, второй—с формол-вакциною, метилен-блау и бриллиянтгрюн вакцинами.

Есть ли основания считать возможным перенесение на почву практических мероприятий нашего метода иммунизации?

Мы должны отрицательно ответить на этот вопрос.

Практически возможен такой подбор антивируса и вируса, который позволял бы сравнительно безопасное введение живой культуры под кожу. С нашим штаммом № 500 мы этого достигли. Но при оценке практической значимости нашето метода приходится считаться не столько с его технической громоздкостью (двумоментность иммунизации, кожные прививки *en nappe* и пр.), сколько с неизбежностью при массовых прививках резких местных реакций у отдельных индивидуумов, даже возможностью сепсиса у особо чувствительных жеребят, а также с неизбежностью колебаний вирулентности стрептококка в культурах.

Подкожное введение вируса, даже при пользовании методом предварительной дермальной десенсибилизации антивирусом с целью смягчения реакции на вирус, не дает гарантий в том, что общее количество полученных при этом местных переболеваний в виде абсцессов и флегмон и число септических заболеваний будут, с точки зрения качественной, лучше естественных переболеваний мытом, в общем доброкачественных с % смертностью в среднем не свыше 2—4.

Все же активная иммунизация против мыта лежит, по нашему убеждению, только на пути пользования живым вирусом.

В настоящее время мы заняты изысканием такого метода введения в организм живого вируса, который был бы безопасным, сохраняя активность.

Выводы.

1. Прививки культур мытного стрептококка под кожу чувствительным к мыту жеребятам влечет за собой местное переболевание в виде абсцесса или флегмоны, но не мыта (Schütz).

2. Жеребята, перенесшие местный процесс в результате подкожного заражения мытным стрептококком, приобретают активный иммунитет к мыту, определяемый незаражением в условиях контактной естественной инфекции. При этом сила иммунитета нахо-

дится в зависимости от характера бывшей местной реакции, достигая при флегмонозном типе реакции уровня иммунитета после перенесенной типичной естественной инфекции (нечувствительность к массивному экспериментальному заражению).

3. Метод иммунизации к мыту путем прививки живого вируса под кожу при предварительной дермальной десенсибилизации антивирусом с целью ликвидации или смягчения местных реакций, несмотря на свою активность, все же лишен практического значения.

ЛИТЕРАТУРА

1) Schütz. Archiv f. wissenchaft. u. pract. Tierheilkunde. 1888. 2) Poelz. Fortschrif. der Medic. 1888. 3) Sand u. Jensen. Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. u. vergleich. Pathol. 1888. 4) Pfeiffer u. O. Müller. Berl. Tirärzte Wochenschr. №№ 10, 50. 1912. 5) Габричевский. Centralblatt f. Bacter. usw. Bd. 41, 1906. 6) С. И. Златогоров, Л. Л. Кандыба и Я. Садовский. Подготовляется к печати. 7) Richter. Zeitschrift f. Weterinärkunde 1929. 8) Kolle, Kraus, Uhlenhut. Handbuch der pathog. Mikroorganismen — Bongert. Die Druse der Pferde. 1929. 9) Б. М. Гурвич. Вестник Современной Ветеринарии. 1928.

Из Государственного Ин-та Экспериментальной Терапии во Франкфурте на Майне.

Исследования по определению титра противодизентерийной сыворотки при помощи высоковалентного токсина Shiga—Kruse.

Р. Прагге и О. Гартох.

Принцип, положенный в основу определения силы антитоксической сыворотки по сути дела весьма простой. Сводится он к определению той дозы токсина, которая как раз нейтрализуется определенным количеством антитоксина; например одной антитоксической единицей.

При определении антитоксического титра испытуемой сыворотки готовятся смеси, содержащие установленную для испытания дозу тест—токсина („*Prüfungsdosis*“) и падающие дозы испытуемой сыворотки. Наибольшее разведение испытуемой сыворотки (т. е. наименьшая доза сыворотки), нейтрализующее введенную в опыт дозу тест-токсина, содержит одну антитоксическую единицу.

Нейтральность смесей, содержащих испытуемую дозу тест-токсина и одну антитоксическую единицу, выявляется переживанием в с е х без исключения животных, коим такая смесь вводится.

Наоборот, при уменьшении дозы прибавляемой к тест-токсину сыворотки на определенную величину, напр. на 10%, смеси становятся настолько токсичными, что все без исключения подъопытные животные от таких смесей погибают.

Смеси токсина-антитоксина с содержанием антитоксина в пределах от 1 *AE* до 0,9 *AE* обладают также и притом нарастающей токсичностью. С уменьшением количества антитоксина в смеси от 1 *AE* до 0,9 *AE*, % погибающих животных закономерно нарастает, проходя все цифровые величины от 0 до 100%.

Количество несвязанного токсина, находящегося в таких смесях или освобождающегося после инъекции их *in vivo* нарастает таким образом от *dosis certe tolerata* к *dosis certe letalis*. При незначительном уменьшении антитоксина в смеси, количество свободного или освобождающегося токсина, повидимому, настолько мало, что погибают от таких смесей лишь наиболее чувствительные животные; при дальнейшем уменьшении антитоксина смеси приобретают свойство убивать и более резистентных животных,

и при наличии 0,9 *AE* в смеси мы отмечаем наличие в них *dosis certe letalis*, обеспечивающую 100% гибель животных.

Будь у нас сыворотка, в которой процессы связывания между токсином и антитоксином характеризовались бы количественными взаимоотношениями вышеприведенного примера, пришлось бы проводить титрование, пользуясь для разведения геометрическим рядом с множителем 9/10, напр. 1/81, 1/90, 1/100, 1/111, 1/123 и т. д. Предположим, что сыворотка содержит 105 *AE* в 1 к. с. В таком случае все смеси, содержащие 1.105 к. с. сыворотки или больше, дадут 100% переживания животных. Наоборот, все смеси, содержащие $9\,10 \times 1/105 = 1/117$ к. с. или меньше, должны были бы вести к 100% гибели животных. Животные же, получившие смеси с промежуточным содержанием антитоксина от 1/105 до 1 117 к. с., могут либо гибнуть, либо переживать, в зависимости от индивидуальной чувствительности их, при чем степень вероятности смерти будет наростать с приближением содержания антитоксина в смеси к 1/117.

При постановке такого опыта титрования возможен двоякий результат, как видно из следующих таблиц:

1.

Животное №№	Инъекция		Результат.
	Токсин.	Сыворотка.	
1	Доза токсина, установл. для испытания.	1/81 к. с.	жива
2	„	1/90 „ „	„
3	„	1/100 „ „	„
4	„	1/111 „ „	†
5	„	1/123 „ „	†

2.

Животное №№	Инъекция		Результат.
	Токсин.	Сыворотка.	
1	Доза токсина, установл. для испытания.	1/81 к. с.	жива
2	„	1/90 „ „	„
3	„	1/100 „ „	„
4	„	1/111 „ „	„
5	„	1/123 „ „	†

В первом определении найденная (в качестве эквивалента 1,0 *AE*) величина 1/100 к. с. больше, чем действительная (1 105 к. с.), во втором 1 111 к. с., наоборот, преуменьшена. Таким образом,

ошибка в первом случае равна + 5%, а во втором — 5,7%. Количество *AE* в смеси, при котором возможны хотя бы единичные смертельные исходы, во всяком случае должно быть меньше 1 *AE* (в данном случае меньше 1/105 к. с.); наоборот, переживание хотя бы и единичных животных может иметь место лишь тогда, когда количество *AE* в смеси больше 0,9 *AE* (в данном случае больше 1/117 к. с.).

Из этого следует, что, при постановке опыта титрования в любых иных разведениях (конечно, придерживаясь геометрического ряда с множителем 9/10), определяемый эквивалент 1,0 *AE* будет всегда меньше 1,11 *AE* (1 95 к. с.) и всегда больше 0,9 *AE* (1/117 к. с.). Диапазон возможной ошибки в определении действительного титра сыворотки исчерпывается, таким образом, ошибками + 11% и — 10%.

Из этого вытекает, что метод определения антитоксического титра в тех случаях, когда возможная ошибка в ту или иную сторону настолько невелика, обладает вполне достаточной точностью для практических нужд.

II.

Совершенно иные условия создаются, если **незначительное уменьшение** содержания антитоксина в смеси **недостаточно** для освобождения *dosis certe letalis* и если это достигается лишь **резким** количественным снижением, напр., при снижении антитоксина на 75%.

В таких случаях указанный в I гл. метод определения антитоксического титра становится в значительной степени неточным.

При количественных взаимоотношениях, соответствующих последнему примеру, пришлось бы проводить титрования, пользуясь геометрическим рядом разведений с множителем 1/4.

Точность определения титра при этом характеризовалась бы предельными величинами 4,0 и 0,25 *AE*, и ошибки в ту или иную сторону определились бы + 300% и — 75%.

Одним увеличением множителя до 1/2 или $1/\sqrt{2}$, или $1/4\sqrt{2}$ удалось бы снизить лишь предел ошибки в положительную сторону с приближением его к 0-й величине; предельная ошибка в противоположную сторону все же осталась бы без изменения.

В этом легко убедиться, беря, например, ряд разведений с множителем 1/2; в этом случае наибольшее содержание антитоксина будет определяться значением < 2 *AE*. Ведь лишь смеси, содержащие меньше 1 *AE*, могут вызвать смерть наиболее чувствительных животных, и, пользуясь множителем 1/2, лишь предшествующее разведение, содержащее 2-кратно величину < 1 *AE*, т. е. < 2 *AE*, обеспечит 100% выживаемость. Ошибка в положительную сторону при замене множителя 1/4 — 1/2 снижается таким образом до + 100%. В виду же того, что для освобождения из смеси *dosis certe letalis* требуется снизить содержание антитоксина с 1 *AE* до 0,25 *AE* (на 75%), то в отношении второй предельной величины и при использовании множителя 1/2 степень точности все же остается без изменения — 75%.

Если множитель, применяемый в рядах титрования, больше 3/4, то степень вероятности ошибки в положительную сторону очень невелика, так, например, при применении множителя 4/5 ошибка в положительную сторону может иметь

место лишь тогда, когда погибнет животное от смеси, содержащей больше 0,8 *AE*, т. е. смеси, от которой громадное большинство животных переживает. В общем придется считаться преимущественно с ошибками в отрицательную сторону.

Чем больше сам множитель, тем больше количество в ряду разведений и, в частности, в пределах решающих в данном случае величин, т.-е 1,0 и 0,25 *AE*. Само собою понятно, что с увеличением количества ставящихся разведений возрастает и вероятность наступления смертельных исходов от той или иной смеси с количеством антитоксина, уменьшенным лишь на незначительную величину против 1 *AE*.

Это положение, в свою очередь, равносильно тому, что с увеличением множителя возрастает и вероятность, что определяемый титр окажется лишь незначительно ниже действительного.

Из сказанного следует, что употребление множителя $> 1/4$, хотя теоретически и обеспечивает большую точность результатов титрования, но практически неприменимо в силу того, что пришлось бы ставить слишком длинные ряды.

К тому же получаемые результаты могли бы принять, хотя и лишь кажущийся, характер неправильных рядов. Даже при замене множителя 1/4 лишь множителем 1/2 титрование сыворотки с титром 160 могло бы предстать в следующем виде:

Животное №№	Инъекция		Результат.
	Токсин.	Сыворотка.	
1	Доза токсина	1/50 к. с.	жива
2	„ „	1/100 „ „	„
3	„ „ . . .	1/200 „ „	+
4	„ „	1/400 „ „	жива
5	„ „	1/800 „ „	+
6	„ „	1/1600 „ „	+

Разведения 1/200 и 1/400 соответствуют 0,8, и 0,4 *AE* — т.-е. количествам, лежащим между предельными величинами (1,0 и 0,25 *AE*) и оказывающимися смертельными (в смеси с тест-токсином) лишь для определенного % опытных животных.

Вывод: Если разница между количеством сыворотки, необходимым для нейтрализации определенной дозы тест-токсина и тем количеством, при котором из смеси освобождается 1 *dosis certe letalis* велика, то принцип титрования, изложенный в I главе, неприменим. Для таких сывороток требуется способ, дающий возможность принять в расчет особенности самого хода нейтрализации.

III.

Предположение ввести в Германии международную единицу дизентерийного антитоксина послужило поводом вновь заняться изучением вопроса об условиях связывания между дизентерийными токсином и антитоксином

Работы Kolle, Heller'a, de-Mestral и Sachs'a и Georgi прочно обосновали применяющуюся ныне методику титрования антитоксических сывороток *Shiga-Kruse* на белых мышах с использованием смеси токсина и сыворотки.

В частности, этот метод обоснован изысканиями Kolle, Schlossberger'a и Prigge доказавшими, что токсин палочки *Shiga-Kruse* един, и что токсические продукты, получаемые из культур *Shiga-Kruse* при разных способах изготовления не только принципиально равноценны, но с одинаковым успехом могут друг друга замещать в опытах титрования.

Особо пригодны для определения силы сывороток бактерийные тела, полученные из соответствующих культур при помощи бережного умерщвления и последующей сушки в эксикаторах (Sudmersen, Eagleton Sudmersen, Runge O'Brien в виду того, что количество токсина в них в сравнении с сухим весом чрезвычайно велико. В виду этого и мы воспользовались для наших опытов высоковалентным токсином из подсушенных бактерийных тел.

Методика приготовления токсина. 48-часовые агаровые культуры штамма *Shiga-Kruse*, „*Behringwgerke*" смываются дестиллированной водой и прогреваются 15 минут при 58°. Центрифугирование при 2000 оборотах, декантирование, предварительная сушка осадка в эксикаторе, растирание в ступке и досушивание в вакууме над фосфорным ангидридом.

Табл. I.

Вводимая интравенозно смесь (Объем 0,5 кс.)		Количество подъопытн. животных.	Из них пало.	
Немецкая дизентерийная штандартн. сыворотка.	Сухой токсин.			
1/36 к.с. = 1 *AE*	0,7 мгр.	3	3	
„	0,65 „	3	3	
„	0,6 „	3	3	
„	0,55 „	3	3	
„	0,5 „	3	3	
„	0,45 „	6	6	
„	0,4 „	9	9	
„	0,35 „	9	8	+
„	0,3 „	6	5	+
„	0,25 „	6	4	+
„	0,2 „	6	3	+
„	0,15 „	9	2	+
„	0,135 „	30	5	+
„	0,125 „	27	0	←
„	0,1 „	9	0	
„	0,05 „	3	0	

Со 100 матрасов получено было 7 гр. сухого токсина. Сила токсина определялась на мышах весом от 15 — 16 гр.

osis certe letalis равнялась 0,01 *) мгр. Смерть наступает обычно до 5 и не позже 7 дня. Большинство мышей погибает на 2 — 3 день.

Dosis certe tolerata этого токсина равнялась 0,0005 мгр.

Из прежних исследований (7) было известно, что принятая в Германии дизентерийная антитоксическая единица равна 36 международным.

Предстояло в первую очередь выяснить какое количество приготовленного нами токсина нейтрализуется одной международной единицей.

Из таблицы I видно, что от смеси, содержащей германскую штандартную сыворотку в количестве, соответствующем 1 международной единице и 0,125 мгр. сухого токсина, введенной интравенозно 27 мышам весом от 15 — 16 гр., ни одно из подъопытных животных не гибнет. 0,125 мгр. сухого токсина, соответствующего 12,5-кратному *dosis certe letalis* является таким образом, искомой дозой для испытания („*Prüfungsdosis*“) приготовленного токсина.

Как видно из таблицы, точное установление такой „*Prüfungsdosis*“ вполне осуществимо при достаточно точном титровании. Смеси, содержащие лишь на 10% больше токсина — 0,135 мгр., вызывают у части подъопытных животных смерть.

IV.

Точное определение силы антитоксической сыворотки зависит, как было указано в главе I и II, от самого хода, характеризующего процессы насыщения между токсином и антитоксином.

Табл. II.

Вводимая интравенозно смесь (Объем 0,5 к. с.)		Количество подъопытных животных.	Из них пало.	%
Сухой токсин.	Германская штандартная сыворотка.			
0,125 мгр.	1/36 к. с. = 1,0 *AE*	12	0	0
„	0,9.1/36 „ „ = 0,9 „	17	0	0
„	0,8.1/36 „ „ = 0,8 „	18	1	5,6
„	0,75.1/36 „ „ = 0,75 „	9	0	0
„	0,7.1/36 „ „ = 0,7 „	8	2	25,0
„	0,65.1/36 „ „ = 0,65 „	9	1	11,1
„	0,6.1/36 „ „ = 0,6 „	9	3	33,3
„	0,55.1/36 „ „ = 0,55 „	9	5	55,6
„	0,5.1/36 „ „ = 0,5 „	15	9	60,0

*) До сего *времени* работали постоянно с более слабыми токсинами, *d. c. l* которых была не ниже 0,02 mg.

Для выяснения последнего предстояло изучить биологическое действие смесей, содержащих установленную в предыдущем опыте „*Prüfungsdosis*“ нашего токсина (0,125 мгр.) и падающие дозы германской штандартной сыворотки.

Метод этот, введенный в свое время Эрлихом специально для изучения спектра дифтерийного токсина был применен Trevan впервые для прослеживания процессов нейтрализации между дизентерийным токсином и антитоксином.

Данные, приведенные в таблице II, показывают, что наростание токсичности смеси при систематическом снижении содержания антитоксина происходит чрезвычайно слабо. При снижении антитоксина даже до 50% нейтрализующей дозы погибает приблизительно лишь 2/3 подъопытных животных. Количество несвязанного в смеси токсина в последнем случае меньше *dosis certe letalis*.

V.

При определении антитоксического титра противодизентерийных сывороток в Германии пользуются штандартной сывороткой, сохраняющейся в точно отвешенных количествах в эвакуированных пробирках. Если содержимое пробирки растворить в 14,5 к. с. физиологического раствора, то получается 14,54 к. с. раствора, содержащего в 1 к. с. 1 германскую или 36 международных *AE*.

При введении в Германии вместо германской единицы — международной необходимо изменить существующие на сей предмет правила разведения. Имея в виду, что международная штандартная сыворотка, изготовляемая в Государственном Сывороточном Институте в Копенгагене, содержит в 1 к. с. 200 международных единиц, пришлось бы по формуле

$$14{,}54 \cdot 36 = x\,200;\ x = \frac{14{,}54 \cdot 36}{200} = 2{,}62 \text{ к. с.}$$

разводить сухую германскую сыворотку физиологическим раствором до 2,62 к. с. объема. Для получения такового объема необходимо к сухой сыворотке прибавить 2,58 к. с. физиологического раствора. При таких взаимоотношениях в 1 к. с. растворенной германской сыворотки будет находиться 200 *AE* и в дальнейшем разведении 1/200 каждого кубика будет соответствовать 1 *AE* или 1/36 прежней германской единицы.

В порядке проверки и дополнения последнего опыта (табл. II) было вновь проведено титрование смесей, содержащих неизменную величину сухого токсина и падающие дозы антитоксической сыворотки. Опытные данные сведены в таблице III.

При сравнении % смертности подъопытных животных, приведенного в таблице II с соответствующими данными из таблицы III (обведенные прямоугольником), отмечается почти полное совпадение.

Смеси с содержанием 0,6 германских *AE* (табл. II) дают смертность в 33%, а смеси с 0,6. 1/200 к. с. штандартной сыворотки, разведенной по новой прописи, убивают 41% подъопытных животных. При 0,55 *AE* и при 0 55. 1/200 к. с. гибнут в первом случае 55%, во втором 45%, при 0,5 *AE* и при 0,5. 1/200 — 60 и 66%.

Табл. III. *)

Вводимая интравенозно смесь (Объем 0,5 к. с.)		Количество подъопытных животных.	Из них пало.	%
Сухой токсин.	Германская штандартная сыворотка. **)			
0,125 мгр.	1/200 к. с.	23	0	0
„	0,75.1/200 „ „	24	4	16,7
„	0,7.1/200 „ „	12	1	8,3
„	0,65.1/200 „ „	12	2	16,7
„	0,6.1/200 „ „	12	5	41,7
„	0,55.1/200 „ „	11	5	45,4
„	0,5.1/200 „ „	24	16	66,7
„	0,45.1/200 „ „	24	20	83,3
„	0,4.1/200 „ „	11	8	72,7
„	0,35.1/200 „ „	10	9	90,0
„	0,3.1/200 „ „	12	12	100,0
„	0,25.1/200 „ „	12	12	100,0

Эти опыты подтверждают лишь выводы всех предыдущих работ, на основании которых было вычислено, что германская анти-

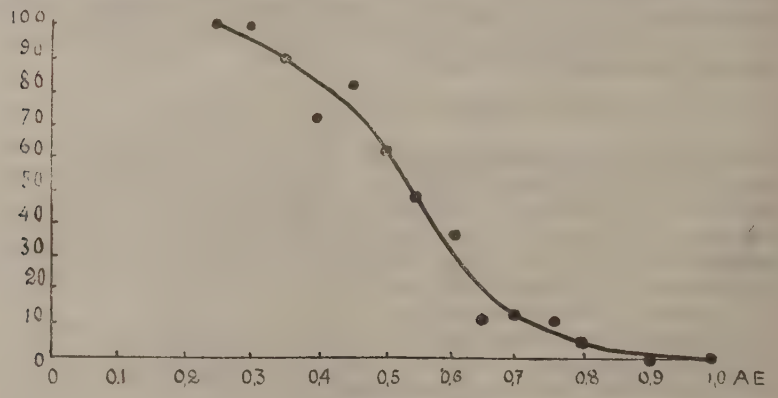


Рис. 1.

токсическая единица равняется 36 международным единицам, и, с другой стороны, подтверждают правильность новой прописи для разведения германской сыворотки.

*) В табл. III вошли также животные из опыта представленного на табл. V.
**) Сухая герм. сыворотка разведена прибавлением 2,58 к. с. физ. раств.

На основании полученных опытных данных, процесс нейтрализации определенной неизменной дозы дизентерийного токсина падающими дозами антитоксина может быть представлен в виде нижеследующей таблицы IV или, в соответствии с цифровыми данными этой таблицы, в виде кривой (*Neutralisationskurve*) рис. 1.

Количества антитоксина в смеси занесены на абсциссе, процент смертности, соответствующий разным значениям антитоксина в смесях — помечен на ординате.

Табл. IV.

Вводимая интравенозно смесь (Объем 0,5 к. с.)		Количество подъопытн. животн.	Из них пало.	%%%
Дизентерийный тест-токсин „1929".	Дизентерийная сыворотка.			
0,125 мгр.	0,25 *AE*	12	12	100,0
„	0,3 „	12	12	100,0
„	0,35 „	10	9	90,0
„	0,4 „	11	8	72,7
„	0,45 „	24	20	83,3
„	0 5 „	39	25	64,1
„	0,55 „	20	10	50,0
„	0,6 „	21	8	38,1
„	0,65 „	21	3	14,3
„	0,7 „	20	3	15,0
„	0,75 „	33	4	12,1
„	0,8 „	18	1	5,6
„	0,9 „	17	0	0
„	1,0 „	35	0	0

Полученная в наших опытах кривая (рис. 1) более или менее совпадает с кривыми Trevan, полученными при несколько иной постановке опытов.

В его опытах ординаты соответствуют %%% переживающих животных, в то время как у нас занесен % смертности. Наша кривая является поэтому как бы зеркальным отражением его кривой.

Вывод: Снижение потребного для полной нейтрализации токсина-антитоксина на незначительную величину — напр. на 10% — освобождает небольшие дозы токсина, вызывающего смерть лишь у незначительного % подъопытных животных.

Лишь путем уменьшения соответствующих количеств антитоксина на $^3/_{10}$ первоначальной величины удается освободить одну *Dosis certe letalis* [1]).

[1]) Trevan, а также Blake и Okell предложили обозначения „*d.l.* 50", „*d.l.* 75", „*d.l.* 100" для таких количеств токсина, которые убивают 50, 75, 100%

Из этого следует, что при определении антитоксической силы дизентерийной сыворотки нет налицо тех предпосылок, о которых упоминалось в первой главе настоящей работы.

Наоборот, налицо полностью все те условия, которые характерны для всех случаев титрования, описанных применительно к приведенному во II главе примеру.

VI.

О причинах, лежащих в основе только что упомянутых взаимоотношений токсина и антитоксина — имеются отчасти не вполне правильные представления.

В то время, как при взаимоотношении дифтерийного токсина и антитоксина достаточно, как уже было указано, снизить содержание антитоксина в смеси на незначительную (по сравнению с нейтрализирующей дозой) часть, чтобы освободить одну *dosis certe letalis* (Otto и Hetsch, приходится соответственно снижать дизентерийную сыворотку примерно на 70%, чтобы достигнуть того же эффекта.

Такая существенная разница в предельных величинах, наблюдаемая при дизентерийном токсине, зависит по Trevan и Blake, Okell от трех факторов: 1) от количества токсоидов наличных в применяемых для титрования дозах тест-токсина, 2) от количества наличных в нем *doses certe letales* 3) и от индивидуальной чувствительности подъопытных животных к токсину. Schlossberger и Гартох в свое время выяснили, что и в дизентерийном токсине обнаруживаются так называемые токсоидные модификации, лишенные токсических свойств, но сохранившие способность связывать специфический антитоксин. Сравнительное изучение четырех различных дизентерийных токсинов показало, что для нейтрализации 5 *doses certe letales* каждого токсина необходимы были весьма различные количества одной и той же дизентерийной сыворотки, причем разница доходила до 3-х кратного размера.

Обычные наши представления о сущности токсоида заставляют внести в данное Trevan объяснение известный коррективъ. Правильным приходится лишь признать, что количество *doses certe letales* в применяемой дозе тест-токсина предопределяется количеством наличного в нем токсоида, но с другой стороны в объяснении самого феномена действительное значение имеет лишь само количество наличных в токсине *doses certe letales*.

Так расстояние между указанными выше предельными величинами снижается в том же размере, если заменить, например, определенную дозу токсина *A*, содержащего 50% токсина и 50%

подопытных животных. Обозначения „*d.l.* 100“ и *dosis certe letalis*, таким образом, равнозначущие величины.

Если количество свободного токсина, вводимого в смеси токсин-антитоксина (например, 0,125 *мр* тест-токсина + 0,1 *AE*) больше 1 *dosis certe letalis*, то это, конечно, не находит отражения в кривой насыщения (рис. 1). Процесс связывания токсина антитоксином может графически быть изображен посредством кривой смертности лишь в определенном диапазоне.

токсоида, эквивалентной дозой (т.-е. дозой с одинаковым количеством связывающих единиц) токсина *B*, совершенно свободного от токсоидных примесей, как и тогда, если применять в двойном количестве токсин *A* и соответствующие дозы сыворотки.

В обоих случаях удваивается, между прочим, то небольшое количество свободного токсина, отвечающее *dosis certe tolerata*, наличное в биологически нейтральных смесях. В первом случае, благодаря замещению свободного токсоида свободным токсином, во втором случае в виду того, что при удваивании количества токсина *A* и дозы сыворотки количество свободного токсина также возрастет вдвое.

Хотя для нейтрализации такого избыточного токсина в смеси во втором случае потребовалось двойное количество антитоксина по сравнению с первым, все же соотношение

$$\frac{\text{антитоксина}}{\text{токсина}} \quad \text{или} \quad \frac{\text{антитоксина}}{\text{токсина} + \text{токсоид}}$$

в обоих случаях будет совершенно одинаковое.

Само по себе понятно, что различная чувствительность опытных животных является необходимой предпосылкой для объяснения разницы между означенными двумя предельными величинами. Не будь ее, эти две величины имели бы тенденцию слиться.

Неправильна, однако, всякая попытка связать существующее в данном случае расстояние между вышеуказанными предельными величинами исключительно с количеством *doses certe letales* наличных в применяемой дозе тест-токсина и с количественной разницей между *dosis certe tolerata* и *dosis certe letalis*.

Ведь и при дифтерийном токсине доза, бьющая все 100% опытных животных определенного веса, примерно в 5 раз больше того количества, которое всеми без исключения животными того же веса переносится. И, тем не менее, достаточно снизить количество антитоксина в смеси на очень незначительную величину, чтобы превратить нейтральную смесь в абсолютно смертельную, при чем это удается и тогда, когда применяемая доза дифтерийного тест-токсина сама по себе содержит лишь незначительное количество *doses certe letales*.

Взаимное насыщение дифтерийного токсина и антитоксина характеризуется, таким образом, тем, что даже при сравнительно незначительном снижении количества антитоксина в смеси сразу освобождается сравнительно большое количество токсина [1]).

Положим, разница в чувствительности белых мышей к дизентерийному токсину значительно более выражена, чем аналогичная чувствительность морских свинок к дифтерийному токсину. Соотношение *dosis certe tolerata* к *dosis certe letalis* соответствует по Trevan $^1/_{12}$ и др. $^1/_{20}$. И, тем не менее, было бы вполне допустимо, что разница между нейтрализующей дозой антитоксина и дозой, освобождающей I dosis certe letalis могла бы быть очень незначительной. Между тем, из применявшейся нами дозы тест-токсина, содержащей 12,5 *doses certe letales*, освобождается *I dosis certe letalis*, как было показано выше, лишь при снижении % содержания антитоксина в смеси на 70%. В то время как для нейтрализации 11,5 *d. c. l.* расходуется лишь 0,3 *AE*, для нейтрализации последней *d. c. l.* необходимо 0,7 *AE*, т.-е. количество, превосходящее первое более чем вдвое.

[1]) 0,33 к. с. дифтерийного токсина „1925" (*dosis certe letalis* = 0,015 кс) нейтрализовались в марте 1930 г. 1,13 *AE*; смеси, содержавшие 0,33 к.с. + 1,0 *AE*, вызывали смерть у всех без исключения опытных животных. Освобождение *I dosis certe letalis* достигалось. таким образом, снижением количества антитоксина в смеси, меньше 12%.

Из этого же следует, что дело не в чрезвычайно резкой разнице чувствительности опытных животных к дизентерийному токсину, а в том, что приходится считаться с особыми условиями, характерными для самого процесса нейтрализации дизентерийного токсина соответствующим антитоксином, при котором переход от *dosis certe tolerata* к *dosis certe letalis* с уменьшением % содержания антитоксина в смеси происходит чрезвычайно замедленно.

S. Schmidt высказал предположение, что количество токсина, освобождающегося в организме животного из какой-нибудь определенной смеси токсина-антитоксина, весьма различно. Если теоретически такое предположение и допустимо, то все же отсутствие каких-либо экспериментальных данных в пользу такого предположения заставляет считать положение Schmidt'а пока ничем не доказанным.

Наоборот, ничто не противоречит пока предположению, что отмеченная различная устойчивость у животных в отношении одной и той же смеси может сказаться и тогда, если в организме различных животных из соответствующей смеси освобождаются *ceteris paribus* приблизительно одинаковые количества токсина.

Однородность среды, будь ли это в подкожной клетчатке, будь ли это в самой крови, скорее говорит за последнее предположение, причем различные реакции разных животных на одинаковые количества свободного токсина и являются отражением вариирования индивидуальной их чувствительности. За такое предположение говорит также отношение морских свинок к недонейтрализованным смесям дифтерийного токсина и антитоксина. Kolle и и Prigge могли показать, что количество такой смеси, при котором все 100% опытных животных переживают $= 1/5$ количества смертельного для всех.

Обнаруженная разница соответствует, таким образом, разнице, характерной для самого токсина (см. выше) или, иными словами: количество токсина, проявляющее свое действие в организме животного, при прочих равных условиях пропорционально количеству вводимой смеси.

Если наряду с индивидуальной чувствительностью животных к свободному токсину имела бы еще место различная способность организма отщеплять свободный токсин из комплекса токсин-антитоксин, то при введении таких недонейтрализованных смесей можно было бы ожидать, что у известного % животных происходило бы освобождение летальных доз токсина из таких количеств токсин-антитоксинной смеси, которые лежали бы по эту сторону выявленных опытами Kolle, Prigge предельных величин.

VII.

В виду того, что определение титра дизентерийных антитоксических сывороток путем обычной постановки рядов титрования дает ненадежный результат (см. гл. II и V), приходится испыты-

вать каждую смесь в отдельности на более или менее большом количестве животных.

При определении титра испытуемой сыворотки, вводимой в различных разведениях смеси с принятой для испытания дозой тест-токсина, найдутся разведения, которые вызовут смерть лишь у части опытных животных.

Если иметь в своем распоряжении выверенную кривую нейтрализации, как было показано в рис. I, то титр испытуемой сыворотки определяется довольно просто. Приходится лишь определить ту точку кривой, ордината которой соответствует % погибших от данной смеси животных; координированное значение абсциссы соответствует количеству антитоксина в смеси, из которого непосредственно вытекает и титр испытуемой сыворотки. В производственной практике, конечно, не удается иметь в своем распоряжении таких кривых, установленных для каждого применяемого токсина.

В таком случае ограничиваются возможно точным определением одной точки нейтрализированной кривой, т.-е. определяют % смертности белых мышей весом в 15—16 *гр.*, которым вводится смесь с содержанием установленной дозы тест-токсина и 0,5 *AE*.

Если затем титровать испытуемую сыворотку в ниспадающих концентрациях, пользуясь множителем $^1/_2$, то легко обнаружить одну или две смеси, при которых будет гибнуть только часть опытных животных.

1-й пример.

Допустим, что сыворотка содержит в 1 *куб. см.* 960 *AE*. Тогда опытный результат представится следующим образом:

Введено		%% погибших животных
Токсина	Сыворотки	
Тест-токсин в применяемой для испытаний дозе.	1/100 к. с. (= 9,6 *AE*)	0 проц.
	1/200 „ „ (= 4,8 „	0 „
	1/400 „ „ (= 2,4 „	0 „
	1/800 „ „ (= 1,2 „	0 „
	1/1600 „ „ (= 0,6 „	33 „
	1/3200 „ „ (= 0,3 „	100 „
	1/6400 „ „ (= 0,15 „	100 „
	1/12800 „ „ (= 0,075 „	100 „

Если в предварительном опыте было установлено, что смесь, содержащая тест-токсин и 0,5 *AE*, смертельна для 66% мышей, то опыт титрования выявляет, что 1/1600 к. с. испытуемой сыворотки содержит больше 0,5 *AE*. Присоединяя теперь второй ряд титрова-

ния с множителем 9/10, разводя сыворотку 1/1600(=0,6 *AE*)—1/1800(=0,53 *AE*) —1/2000(—0,48 *AE*) и т. д., и устанавливая % смертности для 1/1800=58% и для 1/2000=75%, мы должны будем эквивалентом 0,5 *AE* принять разведение 1/1800. Титр данной сыворотки пришлось бы принять равным 900 *AE* в 1 к. с.

II пример.

Титрование антитоксической дизентерийной сыворотки с содержанием 640 *AE* в 1 к. с.

Введено		%% погибших животных
Токсина	Сыворотки	
Тест-токсин в применяемых для испытаний дозах	1/100 к. с. (=6,4 *AE*)	0 проц.
	1/200 „ „ (=3,2 „	0 „
	1/400 „ „ (=1,6 „	0 „
	1/800 „ „ (=0,8 „	8,3 „
	1/1600 „ „ (=0,4 „	83,3 „
	1/3200 „ „ (=0,2 „	100 „
	1/6400 „ „ (=0,1 „	100 „
	1/12800 „ „ (=0,05 „	100 „

Количество сыворотки, соответствующее 0,5 *AE*, выявляется из дальнейшего титрования.

Введено		%% погибших животных
Токсина	Сыворотки	
Тест-токсин в применяемых для испытаний дозах	1/1000 к. с. (=0,64 *AE*)	16,7 проц.
	1/1200 „ „ (=0,53 „	58,0 „
	1/1400 „ „ (=0.46 „	75,0 „

Титр сыворотки, таким образом, пришлось бы признать равным 600 *AE* в 1 к. с.

Вышеописанный способ основывается на использовании той дозы токсина, которая биологически как раз нейтрализуется I *AE*, при чем само титрование „целится“ на % смертности, соответствующий смеси из той же дозы токсина с 0,5 *AE*. Конечно, нет необходимости применять именно эту дозу токсина; всякая другая

доза токсина приемлема для титрования, поскольку она в смеси с 0,5 *AE* убивает опытных животных в количестве больше 0% и меньше 100%, т. е., поскольку данной смеси в нейтрализационной кривой соответствует строго определенная точка.

Оговорить приходится лишь, что рекомендуется „целиться" по возможности на точки, лежащие в крутой части нейтрализационной кривой, в виду того, что в этой части всякие изменения в количественном содержании антитоксина значительно резче сказываются на % смертности, чем в начальной и конечной части кривой. С наростающим значением таких колебаний и точность самого титрования, конечно, наростает.

Если же остановиться на дозе тест-токсина, безотносительно от ее взаимоотношений с антитоксической единицей, и лишь с тем, чтобы в смеси с 0,5 *AE* она оказалась бы смертельной для известного % опытных животных, то, приходится иметь в виду, что двойное количество антитоксина т. е. 1 *AE*, может оказаться с одной стороны избыточным для нейтрализации этой дозы или, с другой стороны, недостаточным. В этом случае известна лишь одна точка нейтрализационной кривой, а общий ход кривой остается неизвестным.

Если, при работе с изученным нами токсином, напр., остановиться не на дозе 0,125 *мгр*, а взять меньшую дозу, которая в смеси с 0,5 *AE* дает лишь 33% смертности опытных животных, то очевидно, что конечная точка нейтрализационной кривой (см. рис. 1; за конечный пункт нейтрализационной кривой мы принимаем ту точку, которой соответствует биологически нейтральная смесь) сдвинется влево, т. е. количество антитоксина, потребное для ее нейтрализации, будет меньше 1 *AE*.

При использовании дозы тест-токсина, дающей в смеси с 0,5 *AE* 85% смертности ясно, что конец кривой сдвинется вправо, т. е. количество антитоксина, потребное для нейтрализации этой дозы, будет больше 1 *AE*.

Устанавливая титровальный „прицел", нет также необходимости придерживаться непременно какой-нибудь определенной дозы антитоксина. Вместо 0,5 *AE* можно титрование приспособить и к 1,0 *AE* или любому другому значению антитоксина. Лучше всего, конечно, остановиться на дозах, удобных для всякого рода пересчета.

Так, датский способ титрования дизентерийных сывороток исходит из дозы тест-токсина, которая при смешении с 1 *AE* дает $33^1/_3\%$ смертности опытных животных. Принцип титрования остается неизменным, и количество испытуемой сыворотки, дающее в смеси с указанной выше дозой тест-токсина также смертность в $33^1/_3\%$, будет содержаться как раз 1 *AE*.

Из вышесказанного следует, что при титровании дизентерийной сыворотки мы в довольно широком размере можем варьировать точку „прицела". Сам метод от этого не меняется, безотносительно от того, избираем ли мы точку „прицела" вне зависимости от определенной нейтрализационной кривой, или пользуемся ли мы более изящным методом предварительного определения той дозы тест-токсина, которая как раз нейтрализуется 1 *AE* с тем, чтобы впоследствии, применяя вышеозначенную дозу тест-токсина с дроб-

ным количеством 1 *AE*, определить % смертности опытных животных от последней смеси.

Само собою подразумевается, что для учета получаемых результатов во всех случаях требуется ставить одновременно контроль с штандартной сывороткой.

В этом контрольном опыте токсичность смеси токсина и испытуемой сыворотки проверяется смесью того же количества токсина с штандартной сывороткой, взятой в дозе, соответствующей избранному для сравнения количеству.

На значение этого контрольного опыта будет указано в главах IX и X.

VIII. IX.

Задача государственного контроля антитоксических сывороток состоит в возможно точной проверке устанавливаемого производящими сыворотки организациями титра сывороток.

Напр., при проверке дифтерийной сыворотки с титром 500 *AE* требуется лишь проверить, содержит ли испытуемая сыворотка в 1/500 к. с. 1 *AE*. При положительном результате испытания сыворотка допускается в обращение; при отрицательном — бракуется.

Никоим образом не входит в задачи государственного контроля установление действительного титра сыворотки в тех случаях, когда таковой больше, чем указано производственной организацией. То же самое относится, конечно, и к дизентерийным сывороткам.

Нижеприводимый общий ход проверки сыворотки освещает сущность метода.

Германская сухая штандартная сыворотка разводится прибавлением к содержимому ампулы 2,58 к. с. физиологического раствора. Из этого раствора делается разведение, содержащее в 0,25 к. с. 1 международную *AE*, т. е. в 1 к. с. 4 *AE*.

В виду того, что введенная ныне в обиход штандартная сыворотка содержит в 1 к. с. 200 международных единиц, приходится разводить первоначальный раствор в 50 раз.

Испытуемая сыворотка также разводится согласно указанному производственной организацией титру с таким расчетом, чтобы в 0,25 содержалась 1 *AE*.

Так, напр., сыворотка с пометкой „500 *AE*“ разводится 1/125.

При проверке титра из означенных выше исходных растворов штандартной и испытуемой сывороток готовятся дальнейшие разведения, содержащие в постоянном объеме (0,25 к. с.) ниспадающие количества антитоксина (напр., 0.75, 0,5 *AE*), в которые прибавляется установленная доза тест-токсина (*Prüfungsdosis*). Смеси после 1 часа стояния при 37° вводятся интравенозно мышам весом от 15—16 *гр*.

В качестве „*Prüfungsdosis*“ берется то количество тест — токсина, которое нейтрализуется как раз 1 *AE*. В отношении примененного нами токсина эта доза равна 0,125 *мгр* (ср. гл. III, табл. I).

Время наблюдения равно 7 дням. Испытуемые сыворотки, дающие одинаковую смертность во всех разведениях с контроль-

Мыши		Сыворотка	Токсин
А. Контрольные	1 серия	Штандартная сыворотка 0,25 к. с. исходный раств. = 1,0 *AE*	Установл. доза тесттоксина в 0,25 к. с. объема (*Prüfungsdosis*)
	2 „	0,25 к. с. исходн. раств. в развед. $^3/_4 = 0{,}75$ *AE*	„
	3 „	0,25 к. с. исходн. раств. в развед. $^1/_2 = 0{,}5$ *AE*	„
Б. Опытные	4 „	Дизентерийная сыворотка 0,25 к. с. исходн. раствора	„
	5 „	0,25 к. с. исходн. раств. в развед. $^3/_4$	„
	6 „	0,25 к. с. исходн. раств. в развед. $^1/_2$	„

ным опытом, должны быть признаны отвечающими показанному титру. Сыворотки с большей, по сравнению с контролем, смертностью имеют меньший титр, и сыворотки, которые во II и III разведении дают больший % переживаемости, чем в контрольном опыте, имеют избыточный титр.

При применении сухого дизентерийного токсина отмечается в единичных случаях смерть животных через очень короткие промежутки, иногда даже через несколько часов после инъекции смеси. Такой исход не зависит от специфического действия дизентерийного токсина; он не предотвращается антитоксином и должен быть трактован, как неспецифическое воздействие (шок или что-нибудь подобное).

Поэтому, согласно предложению комиссии по штандартизации при гигиенической секции Лиги Наций, эти случаи исключаются из наблюдения и в расчет не принимаются.

Процент смертности животных в отношении определенной смеси выводится поэтому лишь с учетом тех животных, которые переживают 18-ти часовый срок после инъекции. Это положение применялось и в настоящей работе.

Как видно из приведенного хода исследования, проверка титра производится путем сравнения с предохранительным действием штандартной сыворотки в трех разведениях, отвечающих трем точкам нейтрализационной кривой—1,0, 0,75 и 0,5 *AE* (рис. 1).

Точность определения при таком способе значительно возрастает, и все три разведения служат взаимным контролем. Ясно, что и при проверке титра испытуемой сыворотки вполне допустимо ориентироваться и на другие точки нейтрализационной кривой, чем на только что указанные. Положения, выставленные примени-

тельно к простой титрации сыворотки (гл. VI), применимы и к проверочному испытанию.

Все же рекомендуется остановиться на таких точках кривой, которые соответствуют 1 цельной единице и дробным частям ее, находящимся в простых численных отношениях к первой.

При описанной выше методике предохранительное действие испытуемой сыворотки должно итти в параллели с контрольным опытом.

Т. е. испытуемая сыворотка, из которой готовится исходное разведение согласно показанному титру с таким расчетом, чтобы в 0,25 к. с. содержалась бы 1 *AE*, должна предохранять так же, как и штандартная сыворотка все 100% животных.

От дальнейших двух разведений с 0,75 и 0,5 *AE* должны гибнуть, как и от соответствующих доз штандартной сыворотки, около 10 и около 60% животных.

Проверочный результат контроля, выявляющий, что действительный титр испытуемых сывороток ниже показанного, скажется на всех трех опытных разведениях в смысле увеличения % смертности. Если же действительный титр испытуемой сыворотки выше показанного, то лишь в 5-й и 6-й серии это скажется снижением % смертности по сравнению с контролем.

Примененные нами разведения антитоксина отвечают приблизительно геометрическому ряду с множителем $^1/_2$, 1,0, 0,75, 0,5 вместо 1,0—0,707—0,5 *AE*.

Если, таким образом, действительный титр испытуемой сыворотки приблизительно на 30% ниже показанного, % смертности каждой опытной серии отвечал бы таковому, с каким следовало бы считаться лишь в следующей серии.

Наоборот, если действительный титр приблизительно на 40% выше показанного, % смертности каждой серии будет отвечать таковому, какой следовало бы встретить в предшествующей серии.

Та же свобода выбора дозы тест-токсина, которая допускалась при титровании сывороток, допустима, конечно, и при проверке сывороток.

Нет принципиального обязательства работать непременно с дозой тест-токсина, которая как раз нейтрализуется 1 *AE*, хотя этот подход и имеет свои преимущества.

В силе остается лишь безусловное требование, чтобы доза тест-токсина „*Prüfungsdosis*“, установленная на учете взаимоотношения с определенной дозой антитоксина, была бы биологически проверена и теми дозами антитоксина, которые положены в основу метода проверки сыворотки. Т. е. требуется точное установление % смертности опытных животных, коим вводятся смеси избранной дозы тест-токсина с соответствующими методу определения дозами антитоксина. Так, напр., вполне возможно остановиться в своем выборе на дозе какого-нибудь тест-токсина *M*, которая в смеси с 1 *AE* дает $33^1/_3$% смертности у опытных животных (см. ниже правила Датского Института). Этим и ограничиваются возможные по существу указания.

Если при проверке сывороток предполагается исследовать смеси с содержанием $^2/_3$ *AE*, то необходимо предварительно установить, какой % смертности в действительности отвечает такой смеси. Если бы при этом, положим, оказалось что такие смеси убивают $66^2/_3$% животных, то эти данные приложимы лишь к тому тест-токсину, при помощи которого было проведено испытание.

Если же вместо токсина *M* взят токсин *N*, в котором относительное содержание токсоидных модификаций больше, чем в первом, то и кривая насыщения будет иметь более уплощенный характер, чем у первого токсина.

Установив, таким образом, дозу токсина *N* с таким расчетом, чтобы она в смеси с 1 *AE* убивала $33^1/_3\%$ животных, можно заранее сказать, что то же количество тест-токсина с $^2/_3$ *AE* будет бить не $66^2/_3\%$ животных, а меньший %.

Нет поэтому возможности определять понятие дозы испытания „*Prüfungsdosis*“ как ту дозу, которая в смеси с 1 *AE* убивает $33^1/_3\%$ животных, а с $^2/_3$ *AE*—$66^2/_3\%$. Более общее положение гласит, что неправильно предполагать наличие определенных неизменных количественных взаимоотношений между дозой испытания тест-токсина и различными дозами антитоксина.

Необходимо себе вполне уяснить, что количественные взаимоотношения между неизменной дозой тест-токсина и различными дозами антитоксина могут быть воспроизводимы с другим тест-токсином лишь тогда, когда во втором токсине количественное содержание токсоидов и сама кривая насыщения полностью отвечают таковым первого токсина. Если же это условие не налицо, то соответствующие двум дозам антитоксина значения ординаты (%% смертности) могут лежать либо ближе друг к другу, либо дальше друг от друга, чем в опытах с другим токсином. При этом меньшее относительное содержание токсоидов в токсине (по сравнению с другим токсином) вызовет расхождение ординат, а большее содержание—их сближение.

В датских правилах для проверки дизентерийных сывороток понятие „*Prüfungsdosis*“—дозы испытания—определяется требованием, чтобы означенная доза тест-токсина в смеси с 1 *AE* убивала **не больше** $33^1/_3\%$ опытных животных, а в смеси с $^2/_3$ *AE*—**не** меньше $66^2/_3\%$.

Вышеприведенные общие соображения в отношении датских требований приходится несколько уточнить следующими ограничительными оговорками. Не подлежит сомнению, что всякий токсин с количественным содержанием токсоидных модификаций равным или меньшим, чем у токсина, применяемого в Датском Институте, может удовлетворять выставленным требованиям в том смысле, что удается обнаружить дозы, которые в смеси с 1,0 и 0,67 *AE* в такой степени будут нейтрализованы, что соответствующие им смертности будут определяться частным 1 : 2 ($33^1/_3 : 66^2/_3$) или несколько меньшей величиной.

При этом для каждого такого токсина возможно определить две предельные дозировки—меньшую, которая в смеси с $^2/_3$ *AE* в обрез убивает $66^2/_3\%$, животных (а в смеси с 1 *AE* вызывает смертность меньше $33^1/_3\%$), и большую, которая в смеси с 1 *AE* убивает не больше $33^1/_3\%$ (но в смеси с $^2/_3$ *AE* бьет больше $66^2/_3\%$).

Лишь дозы, лежащие между этими предельными количествами, действительно удовлетворяют требованиям датских работников.

Если же токсин имеет большее % содержание токсоидов, чем применяемый датчанами, то вообще **не может** существовать дозировка, укладывающаяся в выставленные датчанами требования.

В таких случаях всякая доза тест-токсина, которая в смеси с 1 *AE* обеспечивает $33^1/_3\%$ смертности, с $^2/_3$ *AE* может обеспечить лишь смертность меньшую $66^2/_3\%$, и, наоборот, всякая большая доза, обеспечивающая в смеси с $^2/_3$ *AE* — $66^2/_3\%$ смертности, дает в смеси 1 *AE* смертность большую $33^1/_3\%$.

Из сказанного вытекает, что употребляемая для опыта доза „*Prüfungsdosis*" дизентерийного тест-токсина не может быть сопряжена с несколькими дозами антитоксина в каких-нибудь постоянных неизменных соотношениях, как это требует датское наставление. Это выполнимо лишь в отношении какой-нибудь одной дозы антитоксина.

Поэтому необходимо требовать, чтобы для каждого тест-токсина, употребляемого для титрования дизентерийных сывороток остальные пункты нейтрализационной кривой устанавливались бы эмпирическим путем.

При титровании и проверке антитоксических дизентерийных сывороток на белых мышах отмечены были известные колебания в чувствительности животных к токсину, носившие периодический характер. В настоящее время известно, что такого рода колебания играют значительно большую роль, чем прежде предполагали.

O'Brien, Blake (неопублик.) и Trevan могли показать, что токсичность смесей с одинаковым количеством токсина и антитоксина в январе и феврале оказывается максимальной, с марта месяца начинает падать, в июне достигает своего минимума и вновь возрастает до декабря месяца включительно.

Такого рода наблюдения означают, что нейтрализационная кривая определенной дозы токсина с временами года меняется и лишь через 1 год возвращается к первоначальному своему значению [1]).

Это обстоятельство, казалось бы, расшатывает основы, на которых построен сам метод титрования и проверка сывороток, поскольку последний как раз опирается на кривую насыщения или определенные точки ее. Trevan предполагает, что отличные в разные месяца кривые насыщения все же находятся в простых между собой соотношениях, считая, что любым двум ординатам соответствует во всех кривых такая пара точек, абсциссы которых находятся в постоянных взаимоотношениях. Вполне достаточно, по его мнению, установить одну какую-нибудь кривую безотносительно от времени года, чтобы, пользуясь штандартной сывороткой, иметь возможность определить титр испытуемой сыворотки.

Необходимо было бы лишь установить % смертности двух смесей, содержащих однозначущие величины штандартной и испы-

[1]) Само собой понятно, что такого рода изменения касаются исключительно кривой смертности. Нет, наоборот, никаких оснований к предположению, что сам процесс связывания токсина-антитоксина подвержен периодическим колебаниям. Количества свободного токсина, действующие in vivo, после введения смесей токсина-антитоксина во все времена года должны быть одинаковы, поскольку сохраняется единство опыта и поскольку в качестве опытного животного мы пользуемся гомоитермическим животным, белой мышью.

туемой сывороток. Согласно найденным значениям ординаты, наносятся на кривую точки, а соответствующие точкам абсциссы были бы пропорциональны количеству антитоксина обеих смесей (т. е. сывороток, из которых смеси готовились).

Не говоря уже о том, что обе кривые, представленные Trevan, вычерчены с учетом не особенно большого количества экспериментально проверенных точек, приходится признать, что и сами предпосылки, из которых исходит автор, не могут считаться доказанными.

В первую очередь не может считаться доказанным, что периодические колебания в чувствительности белых мышей к дизентерийному токсину обусловлены равномерным участием разных индивидуумов в этом феномене. Если же признать эту исходную точку правильной, то это равносильно предпосылке, что для получения равносильного эффекта, в летние месяцы требуется ввести некоторое краткое (K) того количества токсина, которое достаточно, чтобы вызвать то же действие зимой, т. е. *dosis certe letalis* (*d. l.* 100) летом было бы в K раз больше, чем зимой; то же самое пришлось бы утверждать по отношению *kd. l.* 50 и т. д.

Исследования, проведенные нами в период с 21/XII-1929 по 6/I-1930 года показали, что *d. l.* 100 примененного в опытах токсина = 0,01 мгр.; *d. l.* 100 этого же токсина летом равнялась [1]) бы K 0,01 мгр. (приблизительно 1,5. 0,01 мгр.).

Не менее сказанное относится и к тем количествам свободного токсина, которые обнаруживаются в недонейтрализованных смесях, при чем дозы свободного токсина количественно не меняются в зависимости от времени года. Так, количество токсина X, находящееся в недонейтрализованной смеси (приблиаительно 0,125 мгр. тест-токсина и 0,8 AA) и бьющее зимой приблизительно 5% опытных животных, пришлось бы летом увеличивать до К. X, чтобы получить тот же результат. Допустим, что такое увеличение свободного токсина до К. X достигается уменьшением антитоксина в смеси на 10%, т. е. до 0,72 АЕ.

С другой стороны, количество свободного токсина X_2 в смеси, бьющее зимой 85% мышей, в летние месяцы также вызовет меньший % смертности. Необходимо и здесь довести дозу свободного токсина до К. X_2 для того, чтобы получить одинаковый эффект. Но если количество антитоксина, при котором освобождается количество X_2 в смеси токсина-антитоксина, равно 0,4 АЕ, то было бы грубой ошибкой предположить, что достаточно снизить содержание антитоксина на 10%, т. е. довести АЕ в смеси до 0,36 для того, чтобы освободить К. X_2. Для этого необходимо снизить антитоксин больше чем на 10%.

[1]) Все наши опыты, положенные в основу настоящей работы, проведены с 17/XII—1929 года по 11/II—1930 года, т. е. ко времени максимальной чувствительности мышей к дизентерийному токсину. Лишь последние опыты, приведенные в данной главе, касающиеся немецкой и датской сывороток, относятся к 26/III—2/IV — 30 года. К этому времени, однако, еще нельзя было выявить повышенную резистентность у опытных животных.

Ведь учитывая то, что количество *doses letales* в 0,125 мгр. токсина летом меньше, чем зимой, должна наростать и относительная разница между количеством антитоксина, потребного для нейтрализации дозы тест-токсина, и тем количеством антитоксина, при котором в смеси освобождается одна *dosis certe letalis*.

Из этого следует, что кривые насыщения в разные периоды года отнюдь не характеризуются предположенными Trevan отношениями. Нужно, наоборот, предположить, что соответствующие двум определенным ординатам точки „летней" кривой присущи абсциссы, частное которых больше, чем частное абсцисс, соответствующих точек зимней кривой.

Более детальное обоснование выдвинутого положения вытекает из следующих соображений, построенных на предпосылке, что летом для достижения равнозначущего эффекта требуется в K раз больше токсина, чем зимой.

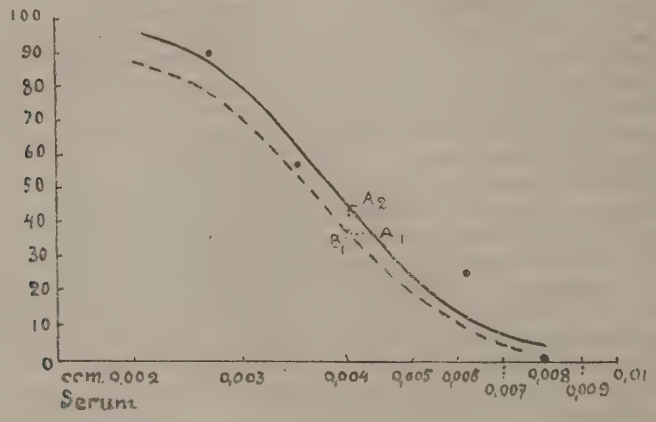


Рис. 2.

Две точки A_1 и B_1 с одинаковой ординатой, из которых точка A_1 относится к зимней (A), а B_1 — к летней кривой (B), соответствуют смесям, которые в различные времена года вызывают одинаковый % смертности у опытных животных. Количество свободного токсина, действующего в обеих смесях, различны. B_1 содержит в K раз больше свободного токсина, чем A_1. То же относится ко всякой другой паре точек с одинаковыми ординатами, т. е. каждая точка в летней кривой (B) соответствует смеси с содержанием в K раз большего токсина, чем может быть обнаружено в смеси, соответствующей точке с одинаковой ординатой в зимней кривой (A).

Точка в зимней кривой A_2, имеющая одинаковую абсциссу с точкой B_1, соответствует той же смеси, что и B_1 — смеси идентичны. Из этого следует, что смесь A_2 содержит, также как смесь B_1, в K раз больше свободного токсина, чем смесь A_1. Надлежит выяснить, в каком соотношении находятся дозы антитоксина

в смесях, соответствующих точкам A_1 и A_2, или 2-м точкам аналогичного порядка.

В более общей формулировке: надлежит выяснить, как необходимо изменить количественное содержание антитоксина в смеси, чтобы свободный антитоксин возрос в K раз.

Trevan предполагает, что различные кривые, при использовании логарифмического подхода к абсциссам, представятся в виде параллельных линий в крутой (т. е. в той части, которая приближается к линеарной) части кривой.

Другими словами, летние кривые по Trevan отличаются от зимних простым сдвигом влево.

Этим, по его мнению, достигается, что свободные дозы токсина, путем равномерного уменьшения антитоксических доз в смеси, как раз настолько увеличиваются, чтобы полностью скомпенсировать увеличенную летнюю резистентность подъопытных животных. Одновременно точки с одинаковой ординатой в различных кривых — A_1 и B_1 и пр. — должны характеризоваться одинаковыми расстояниями. Применительно к кривой A это означало бы, что точки A_1 и A_2, имеющие одинаковую абсциссу, и другие аналогичные точки представляют собою смеси, в которых количества свободного токсина находились бы в постоянных взаимоотношениях. Другими словами, нужно было бы предположить, что с 0/0 уменьшением доз антитоксина количество свободного токсина пропорционально нарастает.

Если обозначить: 1) количество свободного токсина, действующего при введении смеси токсина-антитоксина, через X, 2) кратное количества X, которое получается при уменьшении антитоксина, в смеси на 10% через n X, 3) общее количество токсина, находящееся в применяемой дозе тест-токсина „*Prüfungsdosis*“ через P, то пришлось бы n трактовать, как константу. При этом, значит, n = K. Если X примет значение p/k., то nx должно было бы равняться P.

Это означало бы, что при известном количестве антитоксина в смеси остается в свободном состоянии P/K токсина и что при уменьшении антитоксина лишь на 10% освобождается все количество токсина, находящегося в смеси.

Если X примет величину, большую P/K, то nx должно принять значение даже большее P. Но так как в смеси токсина — антитоксина не может освободиться больше токсина, чем первоначально в ней находится, тем паче при наличии в ней еще какой-то части антитоксина, то приходится считать самую предпосылку, что n является константой, попросту неправильной. Наоборот, нужно признать, что n уменьшается в той мере, в какой количество свободного токсина нарастает; значение беспредельно должно приближаться к единице.

С другой стороны легко доказать, что — пропорционального увеличения количества свободного токсина в смесях возможно лишь достичь не путем равномерного снижения антитоксина, но исключительно путем нарастающего.

Если при наличии 0,8 *AE* в смеси удается путем 10% снижения антитоксина (0,72 *AE*) превратить количество свободного

токсина X_1 в К. X_1, то в отношении смеси с 0,4 АЕ с свободным количеством токсина в X_2 пришлось бы снизить дозу антитоксина больше, чем на 10%.

Пары смесей с свободными количествами токсина, которые находятся между собою в постоянных соотношениях, будут представлены в кривой А через такие пары точек, опорные пункты которых все больше раздвигаются по мере приближения к началу координаты. В одинаковом направлении увеличивается расстояние между точками, лежащими в кривой А и точками в кривой В с одинаковыми ординатами. Кривая насыщения претерпевает, таким образом, с приближением к лету не только сдвиг влево, но представляется, поскольку в отношении абсцисс будет применено логарифмическое исчисление, — и более плоской.

В рис. 2 кривая А совпадает с кривой А, представленной Trevan. Кривая В сконструирована с учетом представленных Trevan данных (кресты) и представляется явно уплощенной, в то время как Trevan сам ее представляет с одинаковой крутизной, как кривую А. В виду того, что кривая В, представленная в рис. 2, более непосредственно подходит к его же крестам (фактические данные), чем кривая, им же сконструированная, то нужно думать, что представленные выше соображения являются наиболее близким к истине толкованием.

Предположение о простом сдвиге влево (без уплощения кривой) возможно было бы лишь подкрепить, прибегая к довольно сложным вспомогательным гипотезам. Так, напр., можно было бы предположить, что коэффициент К уменьшается в неправильных рядах, или допустить, что *dosis certe tolerata* наростает больше, чем *dosis certe letalis*. В последнем случае пришлось бы допустить, что сопротивляемость против дизентерийного токсина летом особо сильно наростает у наиболее чувствительных мышей и в меньшей степени у животных с большей резистентностью.

X.

В предыдущей главе было показано, что одна и та же кривая в различные времена года не может служить точным мерилом.

И, тем не менее, возможно в любое время года провести титрование и проверку антитоксических дизентерийных сывороток с совершенно одинаковой точностью. Если проводить титрование по способу, описанному в гл. VII, то, действительно, не всегда представляется возможным, основываясь на % смертности (соответствующей какой-нибудь точке кривой) судить непосредственно о содержании в смеси антитоксина. Из этого следует, что однократное установление „точки прицела“ является недостаточным.

Наоборот, необходимо при каждом титровании вновь определять % смертности, соответствующий определенной величине антитоксина, используя для этого смесь с опытной дозой тест-токсина (*Prüfungsdosis)* и определенной дозой, напр. 0,5 АЕ штандартной сыворотки (гл. VII).

В этом именно и заключается самая сущность принципа штандартизации! Если при этом обнаружится, что определенной дозе испытуемой сыворотки соответствует смертность, превышающая или недостигающая таковую от смеси со штандартной сывороткой, то уже на этом этапе можно заключить, что содержание антитоксина в испытуемой смеси лишь несколько больше или меньше, чем в контрольной. Лишь путем добавочного титрования с меньшими и большими дозами испытуемой сыворотки в смеси удается вплотную приблизиться к результатам контрольного опыта.

Придерживаясь такого метода, конечно, совершенно безразлично, что опытная доза тест-токсина с 0,5 АЕ штандартной сыворотки летом дает меньшую смертность, чем зимой.

Лишь в том случае, если „сезонный" сдвиг оказался бы настолько значительным, что вызванная контрольной смесью смертность снизилась бы до слишком незначительного %, пришлось бы неминуемо прибегнуть к увеличению дозы тест-токсина. Это оказалось бы необходимым по той простой причине, что с уменьшением степени ответной реакции и точность учета самих результатов снижается.

Оставляя дозу испытания *„Prüfungsdosis"* тест-токсина без изменения, мы, конечно, уже не можем рассчитывать на то, что первоначальные соотношения различных доз антитоксина к 1 *АЕ* сохранятся, так как кривые насыщения, как было указано, претерпевают сдвиг влево.

Совершенно аналогичные условия налицо и для проверочных испытаний дизентерийных сывороток, производимых в различные времена года в целях государственного контроля.

И в этих случаях сезонные колебания резистентности мышей не нарушают принцип самого метода, поскольку каждая доза испытуемой сыворотки сравнивается с соответствующей дозой штандартсыворотки.

Если этот метод основан на применении тест-токсина в дозе, соответствующей (нейтрализуемой) 1 *АЕ*, то при наличии серьезного сдвига в резистентности животных летом, увеличение „дозы испытания" *(Prüfungsdosis)* путем нового титрования имеет известные практические преимущества. Ведь при значительном сдвиге конечной точки кривой, 4 серия уже не может служить показателем неполноценности испытуемой сыворотки и заключения о таковой пришлось бы выводить лишь при учете результатов 5 и 6 серии (с 0,75 и 0,5 *АЕ*). Этот недостаток исправим лишь путем увеличения дозы испытания токсина.

Наоборот, если доза испытания была установлена летом, то пришлось бы в зимние месяцы несколько снизить дозу испытания *(Prüfungsdosis)*.

В нижеследующей таблице представлено в качестве примера сравнительное испытание немецкой и датской (международной) дизентерийных штандартных сывороток.

Приведенные в табл. V данные выявляют достаточно полное совпадение в действии обеих штандартных сывороток. Разведение немецкой штандартной сыворотки произведено с таким расчетом,

Табл. V.

Дизентер. токсин. „1929“	Немецк. дизентер. штандартн. сыв.	Количеств. животн.	Из них пало.	%	Датская дизентер. штандартн. сыв.	Количеств. животн.	Из них пало.	%
0,25 к. с. тест-токсина = 0,125 мгр.	$^1/_{200}$ к. с.	11	0	0	$^1/_{200}$ к. с.	12	0	0
0,25 к. с. тест-токсина = 0,125 мгр.	$^3/_{800}$ к. с.	12	2	16,7	$^3/_{800}$ к. с.	12	3	25
0,25 к. с. тест-токсина = 0,125 мгр.	$^1/_{400}$ к. с.	12	8	66,7	$^1/_{400}$ к. с.	12	9	75

что в $^1/_{200}$ к. с. содержалось то же количество антитоксина, которое соответствовало $^1/_{36}$ к. с. той же немецкой штандартной, разведенной по старой прописи.

Взятые в опыт разведения $^1/_{200}$, $^3/_{800}$, $^1/_{400}$, соответствуют, таким образом, $^1/_{36}$, $^1/_{48}$ и $^1/_{72}$ к. с. старой немецкой штандартной сыворотки.

Результат проведенного сравнения вновь подтверждает данные, полученные в Государственном Сывороточном Институте в Копенгагене и в Институте Экспериментальной Терапии во Франкфурте, а именно, что:

$^1/_{36}$ германской дизентерийной штандартной сыворотки „старой“ $= ^1/_{200}$ „ „ „ „ „новой“ $= ^1/_{200}$ датской (международной) дизентерийной штандартной сыворотки $=$ I *AE*.

Литература

1) Kolle, W., Heller, O., und de Mestral, V., Die Wertbestimmung des Dysenterieserums. Dtsch. med. Wochenshr., 1908, S. 809. 2) Dieselben, Beitrag zur Wertbestimmung des antitoxischen Dysenteriesseums. Arb. Inst Inf. Krankh. Bern, 1908, H. 1, S. 1. 3) Sacus, H., und Georgi, W., Zur Wertbestimmung des antitoxischen Dysenterieserums. Dtsch. med. Wochenschr., 1918, S. 610. 4) Kolle, W., Schlossberger, H., und Prigge, R., Ueber Eigenschaften, Wikungsart und Wertdestimmung des Dysenterieserums. Dtsch. med. Wochenschr., 1924, S. 1104. — Société des Nations, Organisation d'Hygiène, C. H. 213, Genf 1924. 5) Sudmersen, H. J. und Eagleton, A. J., Standardization of antidysentery serum. Lancet, 1921. Bd. II, S. 1109. 6) Runge. B. F., und O'Brien, R. A., Standardization of Antidysentery (Shiga)-Serum. Brit. Journ. of exp. Path., Vol. 5. 1924, S. 100. 7) Schlossberger, H., und Wichmann, F. W. Untersuchungen über die Bindungsverhaltnisse von Dysenterietoxin und Dysenterisantitoxin. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 107, 1927, H. 3 4, S. 716. 8) Ehrlich, P., Ueber die Giftkomponenten des Eiphtherietoxins. Berl. klin. Wochenschr., 1903, Nr. 35/37, 9) Trevan, J. W., A statistical note on the testing of anti-dysentery sera. Journ. of Path. and Bact., Bd. 32, 1929, S. 127. 10) Blake, A. V. and Okell, C. C., Standardisation of antidysentery serum: effest of increased test dose of toxin on the accuracy of titration. Journ. of Path. and Bact., Vol. 32, 1929, S. 121. 11) Otto. R., und Hetcsh, H., Die Prüfung und Werdemmessung der Sera und Impfstofie, Arb. a. d. Staatsinst. f. exp. Ther., 1927, H. 19, S. 63. 12) Trevan, J. W. The error of determination of toxicity. Proc. of the Roy. Soc. B. Vol. 101. 1927, p. 483. 13) Schmidt, S., Die Reaktionsgeschwindigkeit zwischen Toxin und Antitoxin bei fraktionierter Sättigung (Diphtherie und Tetanus). Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 59, 1928, S. 82. 14) Bericht der Standartgisierungskommission über Dysenterieserum. Sociètè des Nations, Organisation d' Hygiène, C. H/S.S./57. 15) O'Brien. R. A., Standardisation du sérum antidysentérique (Shiga). Sociéte des Nations, Organisation d'Hygiène, C. H /S.S./52, 1928. 16) Schlossberger, H., und Hartoch, O., Weitere Untersuchungen über die Wertbestimmung des antitoxischen Dysenterieserums. Dtsch. med. Wochenschr., 1925, Nr, 45.

Из Лаборатории Больницы им. С. П. Боткина в Ленинграде.

К казуистике маннит — несбраживающей дизентерийной группы.

М. Рапопорт, А. Дауман и А. Вайнтрауб.

При характеристике эпидемии дизентерии в 1923 г. в Ленинграде М. Рапопорт обращает внимание на несколько выделенных ею штаммов, образующих замкнутую серологическую группу, биохимически занимающую промежуточное место между дизентерийными палочками типа Shiga и палочками группы Hissa-Flexner. Неспособность сбраживать маннит приближает описываемые штаммы к типу Shiga; малая токсичность, индолообразование и положительная каталазная реакция Knorr'a сближают их с маннит — сбраживающей дизентерийной группой. При дальнейшем наблюдении некоторых сохранившихся штаммов выявились новые признаки, описание которых и составляет предмет настоящей работы.

При засеве смешением большого количества шт. № 1702 на агаре с 1% глюкозой был обнаружен газ в небольшом количестве, который не удавалось отметить раньше, правда, при посеве на вышеуказанную среду уколом.

В первую очередь, для исключения возможности загрязнения, были сделаны рассевы из двух штаммов № 1843 и № 1702 на чашки простого агара, которые дали следующие результаты: при пересеве 50-ти изолированных колоний шт. 1702 на агар с 1% глюкозой только одна колония дала небольшое количество газа. Из 20-ти колоний шт. 1843—2 колонии дали газ, при повторных опытах едва уловимый.

Штаммы, не дающие газа на глюкозе, мы будем в последующем изложении обозначать как „газ—", а газообразующие колонии „газ+". Таким образом, мы получили серию штаммов 1702 газ—, 1702 газ+, 1843 газ—, 1843 газ+, которые неоднократно рассевались и снова проверялись на сахарном агаре. Группа газ+т. е. газообразующая, давала при проверке весьма пеструю картину: иногда газ образовывался в значительном количестве, иногда же лишь через 72 часа можно было отметить в лупу I пузырек газа, который через 24 часа стояния в термостате невооруженным глазом был неуловим.

Дальнейшие опыты для определения газообразования на различных углеводах мы проводили на жидких и твердых питательных средах или без индикаторов, или в зависимости от цели прибавлялся лакмус или нейтральрот.

Двухдневное наблюдение на средах, приготовленных на пептонной воде с лакмусом с прибавлением 1% углеводов или спиртов при p_H 6,9, дает следующие результаты, несколько раз проверенные и утвержденные (см. табл. № 1).

Табл. № 1.

Культуры:	Глюкоза		Мальтоза		Сахароза		Лактоза		Маннит		Глицерин	
	Кис.	Газ.	Кис.	Газ.	Кис.	Газ.	Кис.	Газ.	Кис.	Газ.	Кис.	Газ.
1702 газ —	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1702 газ +	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1843 газ —	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1843 газ +	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Палочка Shiga	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
Палочка Hiss	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
Палочка Eberth'a	+	—	+	—	—	—	—	—	+	—	+	—
Паратиф B.	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+	+	—
B. coli Schottmüller	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+
B. coli communior	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Штаммы группы газ— в обычных условиях опыта на пептонной воде с глюкозой газа не давали; штаммы группы газ+на глюкозе давали газ, но количество его сильно колебалось от значительных до едва уловимых пузырьков; изредка газообразование совершенно отсутствовало.

Вопрос о благоприятных условиях для газообразования освещен в работе Klieneberger, которая рекомендует следующие условия засева, способствующие сбраживанию углеводов с газообразованием. 1) Следует засевать достаточное количество микробных единиц. 2) После засева на разжиженный сахарный агар следует энергично встряхнуть пробирку для того, чтобы в среду проник воздух, обеспечивающий достаточную аэрацию среды. 3) p_H должно быть благоприятным для данного вида микробов; для большинства видов p_H должно быть около 7,4. Автор работы указывает на некоторые химические агенты, которые могут стимулировать или угнетать брожение, а следовательно и газообразование.

Для решения вопроса, являются ли наши штаммы газ— не дающие очень слабыми сбраживателями глюкозы с газообразованием, или они совершенно лишены этой способности и разлагают глюкозу только с кислотообразованием, что свойственно дизентерийной группе, мы применили те условия опыта, которые рекомендует в своей работе Klieneberger.

Посев на агаре с 1% глюкозой, разного p_H от 6,6 до 7,6 дали результаты, приведенные в таблице № 2.

Табл. № 2.

Газообразование на глюкозе [1].

Культуры	$p_H = 6{,}6$	6,8	7,0	7,2	7,4	7,6
1702 газ —	—	—	—	—	—	—
1702 газ +	+	++	+++	+++	+++	+++
1843 газ —	—	—	—	—	—	—
1843 газ +	+	+	+++	+++	+++	+++
B. fallax (Ornstein'a)	—	—	—	—	—	—
B. inconstans I	—	—	+	++	++	+++
B. inconstans III	—	—	+	++	++	++
B. typh. abdom.	—	—	—	—	—	—
B. parat. B.	+++	+++	+++	+++	+++	++++
B. coli commune	+++	+++	+++	++++	++++	++++

Из этой таблицы видно, что сильные сбраживатели, как кишечная палочка и пал. паратифа B даже при низком p_H дают сильное газообразование, но как для них, так и для слабых сбраживателей, представителями которых является описанная Ornstein группа под названием *inconstans* („непостоянный" в смысле газообразования), оптимальной зоной является среда с p_H от 7,4 до 7,6. При p_H ниже 7,2 и в особенности при 7,0 газ у слабых сбраживателей может быть пропущен. Эти данные, неоднократно проверенные, согласуются с данными Klieneberger. Весьма вероятно, что при пониженном p_H и интенсивность роста микробов сильно понижается.

Вместе с тем мы убедились, что наша газ не дающая группа даже и при благоприятных условиях не дает видимого газа на сахарном агаре. Следуя предписаниям Klieneberger, культуры для посева мы применяли односуточные, среды засевались очень обильно.

При посеве на пептонную воду в пробирках с трубочками Durham с 1%, 1/2% и 1/3% глюкозы, группа газ— газа не дала.

Следовательно, в обычных условиях опыта описываемую нами разновидность „газ —" можно было счесть как дефективную в смысле газообразования по отношению к группе газ+, отдельные представители которой дают значительное количество газа на средах с глюкозой; вместе с тем мы убедились, что описываемая группа, биохимически близко стоящая к *B. dys. Shiga*, состоит из двух вариантов: газ образующих и газ не образующих палочек.

[1] Обозначения: + газообразование; — газообразование отсутствует.

При изучении серологических свойств выяснилось, что штаммы группы газ дающей и газ не дающей серологически идентичны между собой, как в обыкновенном агглютинационном опыте, так и при взаимном насыщении по методу Castellani. (См. дальше).

Газообразование на глюкозе проверялось нами не только на сахарном бульоне, на пептонной воде с глюкозой и на сахарном агаре, но и на средах с нейтральрот в различных модификациях.

Как известно, впервые питательные среды с краской нейтральрот были предложены в 1898 году Rotberger, который полагал, что флуоресценция, получаемая на мясопептонном агаре с нейтральрот (углеводов Rotberger не добавлял) специфична только для *B. coli* и отсутствует у брюшно-тифозных палочек Rotberger указал на то, что флуоресценция резче получается при ограниченном доступе кислорода; о том, что краска нейтральрот кроме того еще играет роль индикатора Rotberger не упоминает.

В 1900 году Scheffler подтверждает наблюдения Rotberger'a относительно роста на средах с нейтральротом кишечной палочки и палочек брюшного тифа и определенно указывает, что флуоресценция получается в результате редукции нейтральрота; редукция же, по его мнению, идет за счет активного водорода, получаемого в качестве одного из продуктов брожения при разложении углеводов палочкой *B. coli*. Учитывая этот момент, для ускорения редукции нейтральрота, Scheffler сначала предложил прибавлять к агару 1% глюкозы, являющейся источником свободного водорода, но потом убедился в том, что такие сильные сбраживатели, как кишечная палочка, гораздо быстрее и резче дают флуоресценцию, когда процентное содержание глюкозы снижается до 0,3%.

Засевы Scheffler производил уколом и, считая, что редукция нейтральрота специфична для *B. coli*, пользовался этим методом для дифференцировки нетипичных кишечных палочек, дефективных в смысле индолообразования и газообразования на глюкозе.

Oldekop в 1904 году для ускорения флуоресценции предложил принять агар 0,3% с прибавлением 2% пептона и 0,15% глюкозы; среда Oldekop желатинообразной консистенции, флуоресценция получается через 20 часов.

Вопросу о сущности редукции нейтральрота в литературе уделяется весьма мало места. Тем более заслуживает внимания обставленная многочисленными опытами работа Helenger'a и Schweizer'a. Авторы приходят к выводу: нейтральрот—индикатор, а потому в культурах нужно различать редукцию, дающую флуоресценцию от щелочной реакции, при которой красный цвет среды переходит в желтый; индикаторная реакция легко обратима, т. е. при прибавлении нескольких капель $\frac{1}{10}$ *H* соляной кислоты желтый нейтральрот опять краснеет, флуоресценция же остается; редуцированный нейтральрот можно перевести в первоначальную окраску только при применении сильных окислителей. Редуцированный нейтральрот легко извлекается амиловым алкоголем. *Для редукции нейтральрота необходим активный водород.* Нейтральрот—очень чувствительный реактив на свободный водород. Главный источник *H* в питательных средах—углеводы. Авторы указывают на источник свободного водорода в питательных средах, к которым не прибавлены углеводы, например, в среде Rotberger'a (Агар+нейтральрот). Опыты указанных авторов доказывают присутствие глюкозы и других сбраживающих веществ *„gärbare Substanzen"*, как в самом агаре, так и, главным образом, в бульоне и в экстракте Liebich'a, из которых приготовлялся мясо-пептонный агар. Следовательно, под влиянием ферментов некоторых видов микробов, *H* в питательных средах отщепляется из имеющихся в них хотя бы в большом количестве углеводов. И, действительно, мы изредка наблюдали случаи, когда сильные сбраживатели давали газ на агар-агаре и желатине.

Если всецело встать на эту точку зрения, что некоторые виды микробов разлагают углеводы с отщеплением активного *H*, редуцирующего нейтральрот, то можно сделать следующий вывод: редукция нейтральрота на углеводистых средах косвенно указы-

Табл. № 3.

Культуры	Мясо-пептон агар + 1% глюкозы	Среда Scheffler'a Агар+0,3% глюк.+ нейтрал.		Пептонн. воды +0,2% глюк.+ нейтральр.		Пептонн. воды +0,2% мальтоз. + нейтральр.		Пептонн. воды + 0,2% сахароз. + нейтральр.		Пептон. вод. +0,2% лактозы + нейтральр.		Пептон. вод. +0,2% маннита + нейтральр.	
	Газообразов	Газ.	Редукц.	Газ.	Редукц.	Газ.	Редукц.	Газ.	Редукц.	Газ.	Редук.	Газ.	Редук.
B. Eberth'a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. Parat. B. Schottm	##	##	##	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
B. Breslau	##	##	##	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
B. parat. A.	≠	≠	≠	+	±	+	±	-	-	-	-	+	+
Para-Riesum Sohn	-	-	+										
B. „G"	-	-	+										
B. Shiga	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. Hiss'a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Пал. Кулеша-Титовой	##	##	##										
B. Strong'a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. Schmitz'a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. fallax	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. inconst.	+	+	±	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
B. coli commune	##	##	##	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
B. coli communior	##	##	##	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Прим.: + Слабая редукция.

вает на способность этих видов к газообразованию. Если сопоставить способность редуцировать нейтральрот со свойством газообразования у главных представителей кишечной флоры, то мы увидим параллелизм между этими двумя явлениями.

Виды, дающие сильное газообразование на глюкозе, дают резкую редукцию. *B. parat. A* сбраживатель слабый и редукция слабая. *B. typh. abdom., Bac. fallax,* пал. *Shiga* не дают газа и не дают редукции.

Интересно отметить, что описанный как дефективный в смысле газообразования на глюкозе штамм *B. par. B. Schottmüller*—„*Para Riesum Sohn*" не дает видимого газа на глюкозе, но дает отчетливую редукцию нейтральрота на среде Rotberger-Scheffler. Klieneberger доказала, что при известных условиях эта культура дает отчетливый газ.

Штамм „G" нетипичный Gärtner, выделенный в Москве Викторовым, не дает видимого газа, но дает редукцию.

Сама собою напрашивается мысль: редукция нейтральрота на сахарных средах даже при отсутствии видимого газа указывает на скрытый процесс газообразования, т. е. таким путем можно вылавливать штаммы дефективные, что в практической работе очень важно.

Первоначально мы засевали наши штаммы на агар с нейтральротом с прибавлением 1% глюкозы. В большинстве случаев на вторые и третьи сутки при засеве газ—не дающей группы, изменений нейтральрота не отмечалось; описываемые штаммы вели себя как пал. Eberth'a и как дизентерийная группа. Но при более длительном выращивании групп газ — и газ + наблюдается сначала слабая, а по истечении 5-ти, 6-ти дней отчетливая флуоресценция. По истечении первых двух суток среда по сравнению с контрольной краснеет, т. е. реакция среды кислая. Газ дающая группа дает резкую флуоресценцию, вполне объясняемую обилием *H*, который выделяется из глюкозы.

Засевы наших штаммов на средах с нейтральрот дали следующие результаты. (См. табл. № 4).

Мы должны отметить, что редукция на агаре Rotberger'a у нас скорее и отчетливее выявлялась, чем на среде с прибавлением 1% глюкозы. Посевы на мясо-пептонной желатине с нейтральротом через 1—3 суток при комнатной температуре дают прекрасную редукцию. На среде с нейтральрот по Oldekop через 24 часа мы получали резкую редукцию, но газ не отмечается ни в штаммах 1-ой, ни 2-ой группы, а сильные сбраживатели дают небольшое количество газа, который с течением времени выталкивается оседающей желатинообразной массой наверх. Таким образом, среда Oldekop'a очень благоприятна для выявления редукции, но на ней легко упустить газ.

Для того, чтобы выяснить механизм процесса редукции нейтральрота под влиянием роста описываемой разновидности и для решения вопроса о необходимости углеводов для процесса редукции, нужно было освободиться от мясо-пептонного агара, в котором есть примесь углеводов. С этой целью и опыты были нами проведены на 1% пептонной воде (см. табл. № 5).

Табл. № 4.

Редукция на средах с нейтральрот.

Название штаммов	Ср. Schefler'a (Агар + 0,3% глюкозы + нейтральр.)	Аг-агар +1% глюк. + нейтраль-рот	Rotberger агар + нейтраль-рот	Oldekop 0,5% аг. + 0,15% глюк. + нейтр.	Желатина нейтраль-рот
Группа газ —	— + ч. 2 сут.	+ ч. 7 сут.	+ + + ч. 3 сут. ч.	+ + + ч. 1 сут. „	+ + + чер. 2 сут.
Группа газ +	+ + + „	+ + ч. 2 „	+ + + „	+ + + „	+ + +
B. fallax	„		—	—	—
B. inconstans I	+ + „		+ + „	+ + + „	+ + +
B. inconstans III	— „		+ + „	+ + + „	+ + +
B. dys. Shiga	— „		—	—	
B. dys. Hiss	— „				—
B. typh. abdom.	— „		—		—
B. parat. B.	+ + „		+ + „	+ + + „	+ + +
B. coli com.	+ + + „		+ + + „	+ + + „	+ + +

Табл. № 5.

Наименование культур	Пептонная вода + нейтральрот	Пептонн. вода + 1/4% глюкозы + нейтральрот			Пептонн. вода + 1% глюкозы + нейтральрот		
	Редукция	Кисл.	Газ.	Редук.	Кисл.	Газ.	Редук.
1702 газ —	+	+	—	+	+	—	—
1702 газ +	+	+	+	+	+	+	—
1843 газ —	+	+	—	+	+	—	—
1843 газ +	+	+	+	+	+	+	—
B. fallax	—	+	—	—	+	—	—
B. inconst. I	—	+	+	+	+	+	—
„ *III*	—	+	+	+	+	+	—
„ *A*	—	+	±	+	+	±	—
B. Schmitz'a	—	+	—	—	+	—	—
B. Eberth'a	—	+	—	—	+	—	—
B. par. B. Schottm.	—	+	+	+	+	+	±
B. coli 58	—	+	+	+			
B. coli communior	—	+	+	+			
B. coli (Haemoc)	—	+	+	+			
B. coli commune	—	+	+	+			
B. coli (cor)	+	+	+	+			

Примеч.: Пептонная вода 1% с трубочками Durham'a ± непостоянно газообразование.

Таблица № 5 довольно поучительна в том отношении, что она рельефно показывает, насколько образующаяся кислая реакция пептонной воды мешает выявлению редукции, что отмечается многими авторами. Ведь наиболее резкую редукцию мы должны были бы ожидать в среде с бóльшим содержанием глюкозы, которая несколькими из приведенных видов сбраживается с газообразованием. Но чем сильнее сбраживатель, тем больше образуется кислоты, которая безусловно затемняет картину редукции.

Из приведенной таблицы, видно, что описываемая группа „газ +“ и „газ —“ дает редукцию не только на пептонной воде с глюкозой, но и просто на пептонной воде, т.-е. *вне зависимости от освобождающегося из глюкозы H. B. para B. Schottmüller'a, B. inconstans* и *B. coli* за исключением одного штамма (*cor*) дают редукцию только в присутствии углевода.

Поэтому, основываясь на редукции нейтральрота на агаровых средах, мы не можем сделать вывод, что группа газ — на самом деле дает газ на глюкозе, но в ничтожном, неуловимом количестве. Возможно, что это так, но редукция в отсутствии глюкозы не дает возможности разрешить этот вопрос.

Нужно добавить, что редукция нейтральрота, т.-е. флуоресценция прежде всего появлялась внутри трубочек Durham'a, а потом распространялась на всю пробирку с пептонной водой. Это явление вполне согласуется с данными Helinger'a и Schweizer'a о том, что присутствие свободного кислорода вредит реакции и что агаровые среды потому дают более резкие и быстрые результаты, что в агаровых столбиках создаются условия относительного анаэробиоза. И действительно в нейтральрот-агаре флуоресценция обычно начинается с нижних слоев.

Согласно опытам Herbe редукция на пептонной воде получается и в отсутствии углеводов вследствие интрамолекулярного дыхания микробов, вследствие чего из воды поглощается кислород и выделяется свободный водород. Если, согласно вышеприведенным данным, редукция нейтральрота есть косвенный показатель разложения углевода с газообразованием, даже если количество газа ничтожно и даже невидимо, то теория интрамолекулярного дыхания диагностическое значение нейтральрота в этом направлении приводит к нулю.

Не имея сейчас возможности углубляться в этот обширный вопрос, который служит нам темой специальной разработки, мы можем только указать на то, что в обычных условиях опыта мы все таки должны признать наиболее существенную роль в редукции нейтральрота за водородом, освобождающимся при разложении углеводов, но есть и исключения из этого правила.

Так как у наших видов редукция получается и на средах, совершенно лишенных углеводов, а содержащих только пептон, то с нашей точки зрения следует различать две группы микробов: к I группе относятся напр. *B. parat. B, B. parat. A, inconstans* и некоторые штаммы *B. coli*, которые дают редукцию только за счет свободного *H*, выделяемого ими из углеводов; ко II группе относятся штаммы, дающие редукцию на безуглеводных средах.

К этой II группе относятся описываемая разновидность дизентерийной палочки и один выделенный нами штамм *B. coli* из крови мыши.

Особое наше внимание мы уделили сахарозе в связи с работами Ornstein'a, который описал две группы микробов, симулирующих *B. dys. Shiga.*

Представителей одной группы автор объединил под названием *Bac. fallax*, т.-е. в русском переводе „обманчивый". Представители второй, тоже смешанной группы получили название *Bac. inconstans.* т.-е. „непостоянной" из-за непостоянного газообразования на глюкозе. Обе вышеназванные группы объединяют палочки неподвижные, не разлагающие лактозу, мальтозу, маннит, индол - образующие. *B. fallax* разлагает, как и дизентерийная группа, глюкозу с кислотообразованием, а *Bac. inconstans* тоже дает кислоту и в большинстве случаев, но не всегда, газ. Если *Bac. inconstans* на среде с глюкозой газа не дал, то он как и *Bac. fallax* по биохимическим свойствам может быть легко причислен к *Bac. dys. Shiga.* Если оба описанных вида наблюдать более длительный срок, то обнаруживаются признаки, отделяющие их от группы дизентерии: *Lacmus — molke* через несколько дней синеет; после шести-семидневного роста обнаруживается кислотообразование на сахарозе-лакмус-агаре. На сахарозе-*Endo*-агаре рост чрезвычайно своеобразный.

Описываемая нами группа по своим биохимическим свойствам близко подходит к *B. fallax* и *B. inconstans.*

Для сравнения в нашем распоряжении имеется всего лишь один штамм *B. fallax* и 3 штамма *B. inconstans A*, I и III, любезно предоставленные нам О. О. Гартох, за что пользуемся случаем принести ему нашу благодарность.

Отношение к сахарозе было проверено нами как на плотных так и на жидких питательных средах (см. таблица 6).

Табл. № 6.

Пептонная вода 1% + Сахароза 1% + Лакмус. p_H — 7·2.

Название культур.	1 сутки	4 суток	7 суток
Bac. fallax	—	—	—
№ 1702 газ —	—	—	—
№ 1702 газ + ...	—	—	—
№ 1843 газ —	—	—	—
№ 1843 газ + ...	—	—	—
B. parat B.	—	—	—
B. inconstans A. . . .	—	+	++
B. inconstans I	—	+++	+++
B. inconstans III . . .	—	+++	+++
B. coli communior . .	+++	+++	+++
B. coli commune . . .	—	—	—
B. typh. abdom. . . .	—	—	—
Bac. Schmitza	—	—	—

Табл. № 7.

Название культур.	Агар [1]) + 1% сахарозы + лакмус через 7 суток.
1702 газ —	+
	—
1702 газ + ...	—
1843 газ —	—
1843 газ + ...	—
B. fallax	+
	—
B. inconstans I	+
B. inconstans III	+
B. inconstans A.	+
B. typh. abdom.	—
B. parat. B.	—
B. coli communior	+

На косом сахарозе-лакмус-агаре только один из описываемых нами штаммов один раз дал отчетливое покраснение среды через 6 суток; один раз слабое покраснение дал *B. fallax*. Что касается жидкой пептонной среды, мы обращаем особое внимание на ρ_H среды: только при $\rho_H = 7{,}2$ мы регулярно получали покраснение, обусловленное кислотообразованием у группы *B. inconstans*.

Таким образом мы видим, что отношение описываемых штаммов и имевшегося в нашем распоряжении шт. *B. fallax* к сахарозе *непостоянное*. Изредка получается разложение с кислотообразованием, что соответствует свойствам *B. inconstans* и *B. fallax*, но чаще всего индикатор не реагировал, что может дать повод считать, что данные виды сахарозу не сбраживают.

Присоединив исследования на лакмусовой сыворотке и молоке, мы получаем биохимическую характеристику нашей группы, представленную на табл. 8.

Из этой таблицы видно, что группа I, газа не дающая, приближается к *B. fallax*, отличаясь от него редукцией на среде *Rotberger'a-Scheffler'a*. Группа II, газ дающая и редуцирующая нейтральрот, приближается к группе *B. inconstans*.

Оставалось выяснить серологические особенности.

Нами были приготовлены агглютинирующие сыворотки из штаммов I и II группы и из *B. fallax*.

Обыкновенный агглютинационный опыт дал неожиданные результаты: обе группы, газ дающая и газ недающая до пределов титра агглютинировались сывороткой *B. fallax* и наоборот: сыворотка из штаммов I и II групп агглютинировали друг друга

[1]) Агар приготовлен на пептонной воде.

Табл. № 8.

Название культур	Глюкоза		Мальтоза		Лактоза		Сахароза		Маннит		Глицерин		Rotberger		Пептонн. вода + нейтральр. флуоресцен.	Ср. Petrouschky через 7 дней	Молоко	Индол.	Каталазная р. Knorr'a.
	Газ	Кисл.	Газ	Кисл.	Газ	Кисл.	Газ	Кисл.	Газ	Кисл.	Газ	Кисл.	Газ	Флуорес.					
Группа „газ—“	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+	+	посинен.	медленн. пептониз.	+	+
Группа „газ+“	+	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	+	+	+	„	„	+	+
B. dys. Shiga .	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	слабое покрасснение и помутнение	без измен.	—	—
B. dys. Hiss'a .	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	покраснение, помутнение с переходом в лиловый цвет	„ „	+	+
B. fallax . . .	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	посинен.	медленн. пептониз.	+	+
B. incanstans I.	+	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	+	+	—	„	„	+	+
„ „ *III.*	+	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	+	+	—	„	„	+	+
„ „ *A.*	+	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	+	+	—	„	„	+	+
B. typh. abdom.	—	+	—	+	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—	—	зерк. покр.	без измен.	—	+
B. parat. B. Sch.	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+	—	+	+	+	—	посинение	пептониз.	—	+
B. coli commune . . .	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	резкое покраснение	свертыв.	+	+
B. coli communior . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	„	„	+	+

и *Bac. fallax*. Три штамма *B. inconstans* не давали даже групповой агглютинации.

Табл. № 9.

Агглютинация. Сыворотка 1702 „газ — “, сыв. 1702 „газ +“

Название культур	От 1/1000 – 1/15000
1702 газ —	++
1702 газ + ...	+++
1843 газ —	+++
1843 газ + ...	+++
B. fallax	+++
B. inconstans I	-
B. inconstans III	—
B. inconstans A	—
B. dys. Shiga	—
B. dys. Hiss'a	+
B. Schmitza	-

Такие же результаты дали сыворотка 1843 газ — и 1843 газ +

Табл. № 10.

Сыворотка B. fallax.

Название культур.	1/1000 до 1/10000	1/25000	1/50000
1702 газ —	+++	+++	++
1702 газ + ...	+++	++	++
1843 газ —	+++	++	++
1843 газ + ...	+++	++	++
Bac. fallax	+++	++	++
B. inconstans I . . .	—	—	-
B. inconstans III . . .	—	—	—
B. inconstans A . . .	—	—	—

Интересно было выяснить, является ли *B. fallax* и в серологическом отношении тоже штаммом дефективным по отношению к описываемой группе, т.-е. не получим ли мы такие же соотношения, как между *B. parat. B. Schottmüller* и *B. Breslau*, так как последние данные рецепторного анализа этих двух видов говорят за то, что в серологическом отношении *B. Breslau* является дефективным по отношению к *B. par. B. Schottmüller'a*.

Для решения этого вопроса поставлены опыты с взаимным перекрестным насыщением по методу Castellani (см. табл. № 11).

Табл. № 11.

Опыт насыщения по Castellani. (Сыворотка 1702 „газ+“. Титр. = 6400).

Насыщена / агглютин.	1843 газ —	1843 газ +	1702 газ —	1702 газ +	*B. fallax*
Шт. № 1702 газ — . .	—				+ 1/800
Шт. № 1702 газ + . .		—			+ 1/800
Шт. № 1843 газ — . .	—				+ 1/800
Шт. № 1843 газ + . .		—			+ 1/800
B. fallax	—				—

Сыворотка 1702 „газ —“. Титр. = 6400.

Насыщена / агглютин.	1843 газ —	1843 газ +	1702 газ —	1702 газ +	*B. fallax*
Шт. № 1702 газ — . .	—				+ 1/800
Шт. № 1702 газ + . .		—			+ 1/800
Шт. № 1843 газ — . .	—				+ 1/800
Шт. № 1843 газ + . .		—			+ 1/800
B. fallax	—				—

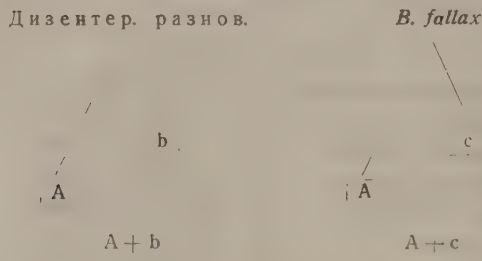
Примеч.: Сыворотки из шт. №№ 1843 газ — и 1843 газ + дали идентичные результаты с сывороток. №№ 1702 газ — и 1702 газ +.

Сыворотка B. fallax. Титр. = 6400.

Насыщена / агглютин.	1843 газ —	1843 газ +	1702 газ —	1702 газ +	*B. fallax*
Шт. № 1702 газ — . .	—				—
Шт. № 1702 газ + . .		—			—
Шт. № 1843 газ — . .	—				—
Шт. № 1843 газ + . .		—			—
B. fallax	+ 1/800				—

Опыты насыщения по Castellani привели к следующему выводу. Штаммы группы газ — и газ + в серологическом отношении идентичны между собой. Штамм газ — и газ + имеют основной общий рецептор с *B. fallax*. Добавочные рецепторы описываемой разновидности (газ дающей и газ не дающей) и *B. fallax'a* различны.

Схема рецепторного аппарата.



В литературе имеется много описаний дизентерийных культур, образующих газ на глюкозе. Из них у нас в СССР прежде всего следует отметить дизентерийную палочку Кулеша-Титовой, которая, к сожалению, в нашем распоряжении не имелась. В журнале *Микробиологии, Патологии и Инфекц. Болезн.* в 1927 году помещена работа Т. А. Колпаковой об эпидемической дизентерии в Ленинграде, при чем по материалу автора тип Кулеша-Титовой, разлагающий глюкозу с газообразованием, был выделен в 12½%. К сожалению, автор не приводит серологических данных, без которых тонкие группировки невозможны.

Вопрос о патогенности наших штаммов все еще остается открытым. Ornstein считает, что *B. fallax* сапрофит. На основании своих наблюдений мы можем сказать, что описываемая нами группа попадалась нам только у колитных больных.

Мы еще раз подчеркиваем диагностические затруднения, с которыми приходится иметь дело при диференцировке дизентерийной группы. Настоящее сообщение посвящено разбору штаммов, безусловно не сбраживающих маннит.

Любопытно отметить, что в нашем распоряжении до сих пор имеется лечебная дизентерийная сыворотка заготовки 1914 года (Ленинград), которая через 15 лет агглютинирует *B. fallax* и описываемые штаммы до 1:1000 и почти не агглютинирует *B. Shiga* и *B. Hiss'a*. Это лишний пример тому как затруднительна дифференцировка этих дизентерийно-подобных штаммов и что они нередко служили для получения лечебных дизентерийных сывороток, будучи отождествляемы с палочками Shiga.

Выводы.

1. Описываемая группа дизентерийно-подобных, маннит несбраживающих, палочек состоит из 2-х вариантов: 1-й вариант

образует газ при разложении глюкозы; 2-й вариант — дефективный, газа на глюкозе не дает.

2. Оба варианта редуцируют нейтральрот в отсутствии углеводов на пептонной воде.

3. Оба варианта в серологическом отношении идентичны между собою.

4. Вариант „газ —" отличается от „*B. fallax*" Ornstein'a свойством редуцировать нейтральрот.

Вариант „газ +" кроме редукции нейтральрота отличается от *B. fallax* газообразованием на глюкозе.

5. В обыкновенном агглютинационном опыте описываемая разновидность и *B. fallax* не отличимы между собою. Опыт насыщения по Castellani выясняет, что *B. fallax* и описываемая группа имеют один общий рецептор и по одному добавочному, специфичному для каждого из них.

6. Многие представители кишечной флоры в посевах на пептонной воде с краской нейтральрот не редуцируют нейтральрот. У этих же видов редукция нейтральрота может наступить при прибавлении к пептонной воде различных углеводов. Положительная редукция в этом случае, несмотря на возможное отсутствие газа, указывает на способность этих видов к газообразованию.

ЛИТЕРАТУРА.

М. Рапопорт. Ж. Микроб., Патол. и Инфекц. Б. Москва, т. II, 1925 г., Т. Колпакова. Там же, т. IV, вып. 4, 1927 г.. Rotberger. C. f. B. B. 21. 1898 г. Scheffler. C. f. B. B. 28. 1900 г. Oldecop. C. f. B. 1909 г. Geilinger u. Schweizer. Biochem. Zeitschr. Bd. 133. 1923 г. Klieneberger. C. f. B. Bd. 96, Hf. 3/4. Klieneberger. C. f. B. Bd. 101, Hf. 6/7. Ornstein. Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 91. Ornstein. Zeitschr. f. Hygiene Bd. 91. Braun u. Liss. Zeitschr. f. Hygiene Bd. 91.

Из Бактериологической Лаборатории Черниговского Сан.-Бакт. института.

Морфологические изменения в микробах и их культурах при бактериофагии.

Б. В. Фурсенко.

Учение о бактериофагии, возникшее сравнительно недавно, привлекло к себе внимание очень большого количества исследователей, и работы по этому вопросу насчитываются уже сотнями. Однако, изучение бактериофагии еще далеко не закончено. Даже вопрос о морфологических изменениях в бактериофагированных культурах еще не достаточно разработан, хотя на этот предмет обращалось уже много внимания в иностранной литературе. В русской этот отдел еще едва затронут. Целью моей работы является заполнение этого пробела.

Я произвел ряд опытов и наблюдений для проверки литературных данных и для изучения хода изменений в различных микробах при бактериофагии.

Мои исследования касаются *B. typhi abdom.*, *B. Shiga-Kruse*, *B. Hiss'a*, *B. coli communis* и *Staphylococc. alb.*

Для получения бактериофагического агента я пользовался фильтратами, обеспложенными пропусканием через свечи Chamberland L. III. Фильтраты эти приготовлялись из: 1) суточного настоя кала на бульоне, при комнатной температуре и 2) суточного настоя оспенной вакцины на бульоне при комнатной температуре.

Таких настоев было получено всего 50, но только 10 из них оказались подходящими во всех отношениях. К фильтрам предъявлялись след. требования: 1) активность, 2) стерильность и 3) перевиваемость пассажами.

Активность определялась слегка измененным способом H. Preisz'a.

На агаровую поверхность в чашки Petri наносился тонкий слой молодой культуры (шести-двенадцати часов). Через один-три часа, когда на поверхности агара появлялись колонии (видные под лупой или под микроскопом) на них наносилась капля испытуемого фильтрата и результат учитывался через сутки.

В случае очень активного фильтрата на месте капли получалось стерильное пятно.

При менее активном, пятно кое-где покрывалось отдельными группами измененных колоний. При еще более слабой степени, образовывались *Taches vierges.*

В случае же, если фильтрат был недеятельный, на месте капли выростали такие же колонии, как и по соседству.

Стерильность проверялась выдерживанием фильтрата двое суток в термостате при 37 градусах и две недели при комнатной температуре, с последующими пересевами на жидкие и плотные питательные среды. Перевиваемость пассажами проверялась установлением степени активности в фильтратах из бульонной бактериофагированной культуры. При чем каждый следующий фильтрат должен был вызвать изменения не ниже той степени, какую вызывал предыдущий.

Активные фильтраты были получены против *B. typhi abd.* (из кала лиц, выздоравливающих от брюшного тифа), против стафилококка из обработанной оспенной вакцины Дженера. Против *B. Shiga* „бактериофаг" получен от Московского Института имени Мечникова. Из всех этих фильтратов сильно действующими, т. е. растворяющими вполне бульонную культуру бактерий (содержащ. 250 миллионов бакт. в 1 *куб. см*) оказались противотифозные №№ 1—3—4 и 7-й и противодизентерийный (Московский). Остальные вызывали образования *taches vierges* и колонии типа *Flatterformen.*

Все фильтраты, которыми я пользовался, за исключением Московского, были *моновалентными* (в пределах тех микробных видов, которые я брал для опыта). Московский же оказался активным против двух наших культур *B. Shiga* и против одного штамма *B. coli commun.*

Таким образом в моем распоряжении были бактериофагические фильтраты, отличающиеся между собой в качественном отношении, но со строго специфическим действием.

Это представляло известные преимущества для выделения общих типичных признаков морфологических изменений при бактериофагии.

Наблюдению за морфологическими изменениями бактериофагированных культур предшествовали следующие подготовительные операции.

В чашку Petri с мясо-пептонным агар-агаром, толщиною 2—2½ *м.м.* засевалось десять капель 6—8-часовой бульонной культуры бактерий и тщательно растиралось по всей поверхности агар-агара. Через 1½—3 часа (в зависимости от вида микроба), когда под микроскопом или под лупой можно было убедиться в появлении молодых колоний, — на обратной стороне чашки делались обозначения восковым карандашом в виде окружности. В центре окружности на поверхность агара клалась капля активного против данного микроба фильтрата, и чашка оставлялась в термостате при 37 градусах. В каждый из следующих полчаса на одну из агаровых поверхностей обозначенных окружностей клалось покровное стеклышко и полученный отпечаток окрашивался синькой с бурой Falier'a или по способу Friedländer'a.

После нескольких часов пребывания в термостате, место, окружающее бактериофагированный участок так утолщается от разростающейся нормальной культуры, что отпечаток на стекле уже не отвечает предъявляемым к нему требованиям. Поэтому в таких случаях делались мазки одновременно из трех участков: 1) из места, окружающего растворенный участок, 2) из края, граничащего с бактериофагированным участком и 3) из бактериофагированного участка. Мазки фиксировались и окрашивались по предыдущему.

Для каждого наблюдения подготовлялось несколько чашек Petri. Они предназначались для получения отпечатков и мазков. Кроме того, применялись тонкие агаровые пластинки в стеклах с камерами для висячих капель, заполненными агар-агаром. На таких пластинках велись наблюдения за ростом и изменением

бактериофагированных колоний в процессе бактериофагии. Для последней цели колонии эти осторожно покрывались покровным стеклом и исследовались под микроскопом через каждые полчаса пребывания в термостате (ср. методику Preisz).

Для изучения под микроскопом бактериофагического лизиса в бульонных культурах я делал ряд висячих капель из эмульсии бульона, заключающего бактериофагическое начало, с молодой двухчасовой агаровой культурой палочки тифа и палочки дизентерии. Эти препараты помещались в термостате. Спустя каждые полчаса 2 из таких препаратов подвергались исследованию, один под эмерсионной системой, при обычном освещении, другой — под ультрамикроскопом.

Кроме того произведено наблюдение над бактериофагированными бульонными культурами под ультрамикроскопом, согласно указанию D'Hérelle'я.

Полученные таким образом данные подтверждают, что под влиянием бактериофагического начала возникают очень скоро гигантские формы микробов. Увеличение тел микробов при этом достигает более значительной степени, нежели при нормальных условиях размножения, в чем легко убедиться, сравнивая отпечаток бактериофагированной и нормальной культуры на одном и том же стеклышке (рис. № 5, см. также рис. № 6, табл. 3-й монографии Preisz'a).

Увеличившиеся в латентной стадии нормальные микробы после некоторого промежутка времени начинают размножаться. У бактериофагированных размножение это приостанавливается раньше, но способность к росту во всех направлениях сохраняется еще на продолжительное время. Этим и обусловливается образование гигантских обрубковидных, нитевидных и коккообразных форм. Среди этих последних несомненно встречаются формы, способные размножаться, но отличающиеся от нормальных своей недолговечностью и способностью растворяться в окружающем субстрате. Среди этих же гигантских форм встречаются и стойкие индивидуумы, способные давать потомство, морфологически - сходное с нормальным. Рис. № 8 представляет бактерий из третьей генерации колоний, выросшей при посеве из культуры, состоящей исключительно из колоний Flatterformen, при чем большинство колоний этой культуры при дальнейших пересевах не давало роста. На снимке видно, что все бактерии увеличены и многие из них находятся в различных стадиях дегенерации.

Таким образом, при бактериофагии в начале этого процесса несомненно преобладают факторы, благоприятствующие росту бактерий во всех направлениях.

Наблюдая за изменением бактериофагированных культур через небольшие, следующие друг за другом промежутки, как это было выше указано, не трудно убедиться, что очень скоро, вслед за воздействием бактериофагического начала, микробы начинают вырабатывать капсулу. В препаратах с отпечатком культур, на которых бактериофагический фильтрат действовал в течение полутора часов, все микробы одеты капсулой, что легко обнаруживается, при окраске синькой Falier'a или по способу Friedländer'a,—(см. рис. № 3.)

Как видно на снимках № 3—4—5 капсулы эти образуются не только вокруг палочки тифа и дизентерии, но и вокруг стафи-

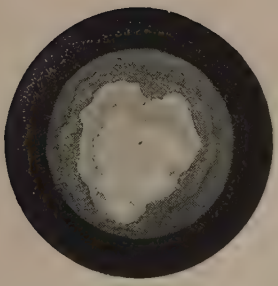


Рис. 1. Микроскопическая картина *tache vierge* увел. в 12 раз. 9 часовая культура *B. Shiga.*

Рис. 3. 1½ часовая бактериофагированная культура *B. typhi abdomin.*

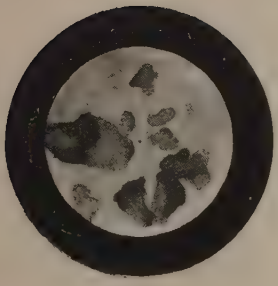


Рис. 2. Бактериофагированные культуры *B. Shiga „Flatterformen"* Gildemeisser'a увел. в 8 раз. (Микр. Zeissa окул. 8 систем. a*

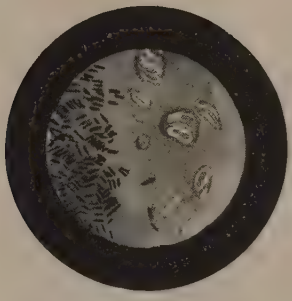


Рис. 4. 10 часовая бактериофагированная культура *B. typhi abd.* Отпечаток края *„tache vierge".* Справа бактерии нормальной величины.

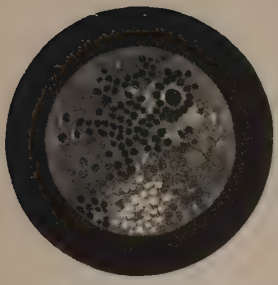


Рис. 5. 5 часовая бактериофагированная культура *Staphylocc. alb.* (Слева гигантская форма, справа одетые капсулой).

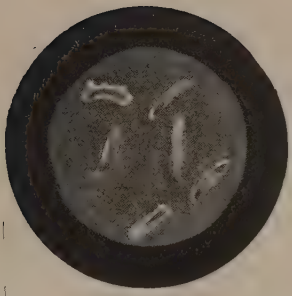


Рис. 7. 9 часовая бактериофагированная культура *B. Shiga* (неравномерное помутнение бактериального тела.

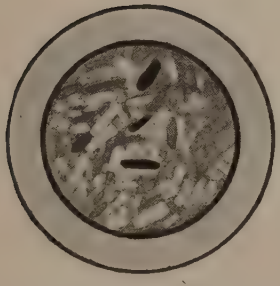


Рис. 6. 9 часовая бактериофагированная культура *B. Shiga* — равномерное помутнение тела бактерии.

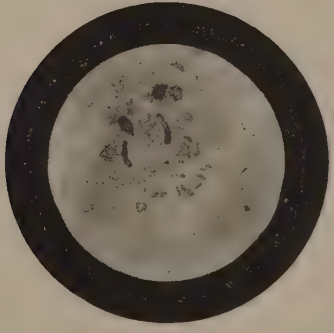


Рис. 8. 18 часовая культура *B. typhi abd.* из колонии *Flatterformen* шаровидные и гигантские формы бактерий.

лококка, вообще не склонного к образованию ее в обычных условиях существования.

На основании этих признаков можно заключить, что, по крайней мере, вначале образование капсул служит для защитительной реакции бактерий против бактериофагического раздражения, так как иначе трудно понять продолжающийся и весьма значительный рост их. В дальнейшем же по мере развития бактериофагии, капсула бактерии утолщается за счет ее тела. На снимке с 9-часовой бактериофагированной культуры дизентерийных палочек, вполне ясно видны все переходы от бацилл, окруженных капсулой, к таким, которые состоят, как будто, из одной только капсулы. В препарате видно также, как это происходит. Тело бактерии постепенно утоньшается, все более и более бледнеет и в конце концов сливается с оболочкой в одну общую бесцветную массу (см. рис. № 6). Другой способ лизиса демонстрируется в препарате № 8. Здесь растворение тела бактерий начинается в одной определенной части и постепенно распространяется дальше. (См. рис. № 7).

Образование капсул бактериофагированными микробами ясно заметно и на фотографических снимках, приложенных к работе H. Preisza[2]) см. рис. №№ 6—13—14 („*Die Bacteriophagie*“, т. III. изд. 1925 г.), хотя он и не придал этому обстоятельству должного значения.

Капсулы, образуемые микробами под влиянием бактериофагического начала, отличаются нежностью и не воспринимают метохроматической окраски в отличие от капсул сибиреязвенных бацилл, окрашиваемых в мазках из организма человека и животного. Но зато такую окраску воспринимают некоторые из поврежденных бактериофагом тел бактерий, как будто они получают свойство обычных капсул, а образованные под влиянием бактериофагии капсулы представляют следующую ступень перерождения протоплазмы.

Эти факты указывают на то, что дегенерация и лизис бактерий при бактериофагии идет от периферии к центру, постепенно изменяя состав и свойство протоплазмы бактерий и превращая ее в растворимое в окружающей среде вещество.

Существует ли кроме этого и такой способ разрушения бактерий, какой описан D'Hérelle, мне наблюдать не приходилось ни под ультрамикроскопом, ни при исследовании окрашенных препаратов, несмотря на то, что я старался точно следовать указаниям D'Hérelle в этом отношении. Поэтому я не могу согласиться и с утверждением D'Hérelle, что разбухание бактерий происходит под влиянием внутренних сил, вызывающих разрыв бактериальной оболочки с освобождением из нее зернистого содержимого.

Так как в каждой культуре не все бактериальные единицы одинаково стойки, то, даже в случае применения очень активных бактериофагических фильтратов, отдельные бактерии не подвергаются полному разрушению. Они только увеличиваются в размере и изменяют форму.

Так как некоторые из них дают со временем плодовитое потомство, то их надо рассматривать не как дегенеративные, а как

выдержавшие борьбу—более стойкие формы-вариации. Такие формы встречаются в более поздней стадии бактериофагии, в культурах восемнадцати-двадцатичетырех — часовой давности и кроме того в таких, в которых бактериофагия не завершилась полным и окончательным растворением бактерий. При дальнейших пересевах из них получаются культуры, морфологически совершенно сходные с нормальными.

Исходя из вышеприведенных опытов и наблюдений над морфологией бактериофагированных культур, можно прийти к следующим выводам:

1) Наиболее яркие проявления бактериофагии доступны невооруженному глазу. Сюда относятся:

А) Образование хлопьев культурами в нормальных условиях, равномерно мутящими бульон. В) Возникновение слизистых тягучих и стекловидных колоний (бациллы тифа, кишечные и др.). С) Образование группой кишечных палочек колоний, сходных с сибиреязвенными.

Менее интенсивные морфологические изменения при бактериофагии констатируются лишь под микроскопом. К ним принадлежат:

А) Складчатые колонии палочек Shiga и кишечных и др. Б) Ненормальные формы микробов: нитевидно-удлиненные, равномерно-разбухшие, кокковидные, шаровидные, неуклюжие и клиновидные формы, палочки и нити с колбовидными вздутиями. В) Зернистые включения у форм, не образующих спор. Г) Образование капсул. Д) Изменение степени прозрачности и Е) Изменение химической структуры протоплазмы, проявляющейся между прочим в метахроматической окраске бактерий.

Изучение морфологических изменений в бактериофагированных микробах не дает никакой опоры для предположения, высказанного D'Hérelle, что ультрамикроб-бактериофаг внедряется в бактерию, размножается в ней и освобождается после того, как оболочка ее лопнет. Наоборот, возникновение при бактериофагии капсул говорит за то, что локализация бактериофагического агента и размножение его находятся в связи с этими элементами бактериальной клетки. Известно, что энергия ослизнения оболочек бактерий, дающая в результате образование капсул, зависит от питания бактерий, от влияния на них извне ядовитых средств, или от условия их местопребывания. (И. Л. Сербинов „Морфология бактерий", стр. 41—Златогоров „Учение о микроорганизмах"). — В случае бактериофагии могут иметь место лишь первая и вторая причины. Можно предположить, что активные вещества бактериофагии вызывают ослизнение оболочек и дальнейшее образование капсул. В них же они находят благоприятные условия для своего существования и размножения. Растворяющееся ослизненное вещество обогащает окружающий бактерии субстрат бактериофагирующим началом,—остающееся в капсулах не лизированных бактерий, служит для консервирования этого начала и для передачи его оболочкам более чувствительных индивидуумов.

Морфологические изменения при бактериофагии дают в совокупности достаточно прочную опору для отличия этого явлен

от других повреждений бактерий, вызываемых некоторыми химическими и физическими агентами, но не дают пока никаких определенных оснований для суждения о причине бактериофагии. Вопрос о том, существует ли ультрамикроб бактериофаг или передающийся пассажами фермент—должен быть решен другим путем.

ЛИТЕРАТУРА.

1) D'Hérelle. „Бактериофаг", монография, перевод под редакц. проф. Коршуна. 2) H. Preisz. „Die Bakteriophagie" (монография), изд. Fischer'a, в Иене. 1925 г. 3) Gildemeisser. Centr. f. Bakteriolog. Origin. H 1/2 стр. 18?—198. 4) Otto und Munter. „Bakteriophagie", монография. Handb. d. Pathog. Mikroor. 1927 г. 5) Bürger. Centr. f. Bakteriologie. 1911 г. 6) Gotschlich. Allg morpholog. u. s. w. Handb. d. Pathog. Mikroor. 1927 г. 7) Iensen K. L. Centr. f. Bakteriol. Orig. Bd. 107.—H. 1—3. 8) Katzu. Centr. f. Bacter. Orig. 1925 г. 9) Handbuch d. Pathog. Mikroorg. Bd. I, стр. 343. 1827 г.

Из Крымского Сан.-Бактериологического Ин-та. Севастополь.

Пептоны и их значение при массовом изготовлении вакцин.

Н. Г. Щербина.

Необходимость получения большого количества микробных тел при изготовлении вакцин, особенно для кишечной вакцинации, естественно вызывает стремление применить при этом такие материалы и такие методы, которые при прочих равных условиях делали бы это изготовление наиболее рентабельным. Необходимость максимальных рационализаторских мероприятий в этой области настоятельно диктуется, особенно в настоящее время, в связи с той волной социалистических соревнований, которая из конца в конец прокатывается по нашему Союзу, захватывая все стороны нашей производственной и прочей деятельности.

В связи с этим, мне кажется небезынтересным опубликование наших опытов, проделанных в 1927 г. и отчасти повторенных в последнее время.

Старая пропись приготовления питательного агара с 1% пептона Witte и мясной водой является при изготовлении вакцин недостаточной и чрезмерно неэкономной, как на это обратил внимание еще в 1913 г. Höttinger, предложивший готовить питательные среды из мяса, переваривая его с помощью панкреатина. Авторы, работавшие со средами Höttinger'a, целиком подтвердили достоинство этого метода.

Мировая война 1914—18 гг. выключила с нашего Российского рынка товары немецкого происхождения и в том числе и пептон Witte. Необходимость же массовых иммунизаций, особенно в армии, и массовых бактериологических посевов в связи с усилением эпидемий заставила русских лабораторных работников заняться вопросом о замене пептонов фабричного происхождения пептонами собственного изготовления. Коршун, Кронтовский и Бронштейн предлагают пользоваться для этого пептоном пепсического переваривания с помощью свиных желудков, Дьяков рекомендует применять панкреатическое переваривание с помощью бычьих желез. В ряде дальнейших работ, преимущественно русские авторы (Штибен, Харкевич, Аверьянов и Шувалов) делились своим опытом в области приготовления и пользования пептонами, как пепсинного, так и трипсинного переваривания. Ашешов (1925 г.) дает рецепт приготовления пептона двойного переваривания пепсинного и трипсинного. Среды, приготовленные на этом пептоне, по заявлению автора, дешевы и, благодаря наличию большого количества различных продуктов дезинтеграции белков, дают прекрасный рост различных микробов, особенно гифозной группы. Из других способов приготовления пептонов для замены продажных препаратов следует упомянуть получение пептонов посредством автолиза пивных дрожжей по Dienert et Guillerd, получившему применение в Институте Экспериментальной Медицины, и гидролиз белков кислотами и щелочами при повышенной температуре

Доложено в Научной Конференции Института 13 — 1 — 30 г.

и давлении. Последний способ не может однако в своем обычном виде получить широкое распространение, так как он требует специальной аппаратуры и полученные при этом продукты не свободны от возражений.

В наших работах мы имели в виду выяснить значение различных видов пептонов для массового изготовления вакцин, как продажных сортов их так и особенно пептонов собственного приготовления.

Из продажных пептонов нами были взяты сухие пептоны фирм: немецких Witte, Ridel и Merck, французских Chapoteau и Poulens и американской Ферчальд.

Из пептонов собственного изготовления были испытаны: Мартеновский пептон, пептон панкреатического переваривания из мяса и пептон панкреатического переваривания из клейковины.

Мартеновский пептон готовился по обычной прописи самоперевариванием свиных желудков при температуре 50° в течение 18 — 20 часов.

Пептон панкреатического переваривания из мяса готовился по следующей прописи: мяса молотого — 500,0, желез поджелуд. бычьих — 500,0, кишек тонких бычьих — 100,0, воды кипяченой — 2,500,0, соды — 6,0, хлороформа — 40,0.

Вся эта смесь помещалась в бутыль на 6 литров с притертой пробкой и ставилась на 3 — 4 дня в термостат при температуре 37 — 40° и в течение этого времени несколько раз в день перемешивалась. Когда процесс переваривания заканчивался (3—5 дней), что контролировалось формольтитрацией аминных групп и реакцией на триптофан, к содержимому бутыли прибавлялась соляная кислота до ясно кислой реакции. Пептон отфильтровывался от непереварившихся остатков через бумагу и в таком виде употреблялся для опытов.

Клейковинный пептон панкреатического переваривания жидкий готовился из клейковины, белкового вещества пшеничной муки, являющейся побочным продуктом при заводском способе приготовления пшеничного крахмала. В ниже приведенных опытах мы пользовались исключительно свежей клейковиной в ее сыром виде, хотя нами испытано также применение и сухого препарата клейковины, в виде так называемого сапожного клея. После ряда предварительных испытаний мы остановились на такой прописи приготовления этого пептона: клейковины сырой — 2,000,0, желез панкр. жидких — 800,0, кишек тонких бычьих — 200,0, воды кипяченой — 1,000,0, соды углекисл. до сл. щ. р., хлороформа — 40,0.

В дальнейшем поступали так же, как и при приготовлении панкреатического пептона из мяса. В конечном результате получалась прозрачная бледно-соломенно-желтая жидкость удельного веса около 1,066 с содержанием сухого вещества до 20%.

Клейковинный пептон панкреатического переваривания сухой был получен из вышеуказанного жидкого. Для его высушивания был применен способ пульверизации жидкого пептона в пространство, сквозь которое протягивался нагретый до 60 — 80° воздух. При таких условиях сушки пептон этот, легко изменяющийся даже при выпаривании, в вакууме оставался неизменным. Нечего и говорить, что этот способ выпаривания, имеющий применение в заводских условиях, является одним из наиболее экономных в отношении топлива.

Все вышеуказанные пептоны нами были испытаны прежде всего в отношении своих основных физико-химических свойств, как это приведено на таблице 1.

Цифры, приведенные в столбце формольтитрации, показывают количество $N/_{10}$ $NaOH$, пошедшее на нейтрализацию карбоксильных групп, освобождающихся под действием формалина, в 10 к. с. 5%-ного раствора пептона. Для Мартеновского пептона, в виду его недостаточной концентрации, эта цифра получена путем пересчета.

Эта таблица показывает степень расщепления в том или другом пептоне белковой молекулы, характеристикой чего являются определяемый формольтитрацией аминный азот, а также реакции биуретовая и на триптофан.

Таб. 1.

Физико-химическая характеристика различных пептонов.

Наименование пептонов.	Из каких материалов приготовлены.	Гигроскопич. сухого пептона.	Растворимость в воде.	Свойства 5%-ного раствора пептонов.			
				Удельн. вес.	Цвет.	Формольтитр.	Реакции: биур.	Реакции: на тринт.
1. Пепт. Ridel	фибрин	нет	с больш. осадком	1,011	бледн. желт.	2,2	++	—
2. „ Witte	фибрин	нет	с больш. осадком	1,012	бледн. желт.	3,0	++	—
3. „ Chapoteau		нет	с небол. осадком	1,017	насыщ. желт.	4,7	++	—
4. Пепт. Poulens . . .		гигр.	с мутью	1,016	бледн. желт.	7,6	+	+—
5. Пептон Мартен. соб. жидк.	желуд.		прозр.		почти бесцв.	8,4	++	—
6. Пепт. Merck	казеин	гигр.	с мутью	1,012	желт.	10,3	+	++
7. „ Ферчальд . . .		очень гигр.	с осад.	1,015	желт.	15,3	++	+
8. Пепт. панкреат. собств. сух. клейков.	клейковина	очень гигр.	полное	1,016	бледн. желт.	17,4	—	++
9. Пепт. панкреат. собств. жидк. мясной	мясо		прозр.	1,016	почти бесцв.	20,4	—	++

Из приведенных данных видно, что наименее расщепленной является белковая молекула в пептоне Ridel, который обладает наименьшим количеством аминного азота, близко к нему стоит также классический пептон Witte, затем следуют пептон Chapoteau. На другом конце по количеству аминного азота стоят панкреатические пептоны нашего изготовления, дающие наивысшие цифры при формольтитрации и не дающие биуретовой реакции.

Познакомившись с этими данными, характеризующими пептоны с физико-химической точки зрения, мы перейдем к изложению наших опытов в отношении биологической проверки пригодности различных пептонов для выращивания различных микробов.

Прежде всего несколько слов о методике испытания. Проверка эта производилась преимущественно на агарах, которые готовились с прибавлением того или другого вида пептона. Все агары отдельного опыта готовились одновременно и вполне идентично. Концентрация водородных ионов устанавливалась по Michaelis. Агары разливались по плоским склянкам (матрацам) емкостью в 400 к. с. в количестве 50 — 60 к. с. что давало толщину слоя агара в нем около 6,5 *м/м*. Посев производился суточной агаровой и лишь в исключительных случаях бульонной культурой соответствующего микроба. Засевалось одновременно обычно не менее 5-ти матрацев каждого сорта. Результаты роста учитывались через 20

22 ч. и через 48 ч. Смыв производился 25—30 к. с. физиологического раствора и густота полученной, таким образом, эмульсии определялась нефилометрически по штандартам Контрольного Института. Полученный штандарт помножался на количество смывной жидкости для определения общего числа микробов, полученных с каждого матраца и последняя величина делилась на количество *куб. см.* агара, налитых в матрац. Таким образом полученная цифра показывает количество микробов в миллиардах выросших на испытуемой среде из расчета на 1 к. с. ее.

На таблице II представлены результаты испытаний роста различных микробов на разных пептонах причем агар содержал 1% испытуемого пептона, (из расчета на сухое вещество в тех случаях, когда применялся жидкий пептон) мясную воду 50%, повар. соли 0,5%, агар-агара 2,25% и реакцию ρ_H 7,4. Цифры в таблице показывают рост в миллиардах на 1 к. с. засеваемого агара.

Таб. 2.

Определение роста микробов на пептонах панкреатического переваривания (с мясной водой).

Состав среды: пептон 1% из расчета на сухое вещество, мясная вода 50%, агар-агара 2,25%, реакция ρ_H 7,2 — 7,4.

Наименование микробов.	Виды пептонов.				
	Witte	Merck	Сухой клейк.	Жидкий клейк.	Жидкий мясной
1. Брюшной тиф . .	2,6	4,4	11,0	10,0	8,5
2. Паратиф А . . .	2,2		10,0		
3. „ В	4,4	6,0	11,2	12,0	10,0
4. *B. Danysz'a* . . .	5,0	9,0	11,6	11,6	11,0
5. Дизентер. *Shiga* .	3,0	6,0	9,0	9,0	9,0
6. *B. Friedländer* . .	6,0		13,0		
7. Холер. вибрион. .	5,0	5,8	7,0	6,4	6,0
8. Стафилококк . . .	13,0	11,0	30,0	26,0	24,0

Цифры в таблицах показывают количество микробов в миллиардах на 1 к. с. среды через 22 ч. роста при температуре 37°.

На таблице III представлены результаты таких же испытаний, произведенных в другое время с иными материалами и иными штаммами культур микробов, при той же прописи среды.

Данные роста микробов, приведенные на таблицах II и III, не дают вполне согласных результатов, но это может быть объяснено неодинаковостью условий этих двух опытов и прежде всего разными штаммами взятых культур, однако, если сопоставить их с данными приведенными на таблице 1, то мы отмечаем вполне закономерную связь между степенью расщепления белковой молекулы, определяемой формольтитрацией, и интенсивностью роста различных микробов. При этом, чем больше количество аминного азота содержит пептон, тем интенсивнее рост на приготовленном из него агаре. Особенно это резко выступает в том случае, если взять агар не содержащий в своем составе мясную воду, как это показывают данные, приведенные на таблице IV. Этот вывод со-

Таб. 3.

Определение роста микробов на разных пептонах (с мясной водой).

Состав среды: пептон 1%, из расчета на сухое вещество, мясная вода 50%, соли поваренной 0,5%, агар-агара 2,25%, реакция среды ρ_H 7,4.

Наименование микробов.	Виды пептонов.			
	Witte	Мартенов. жидкий.	Ферчальд.	Панкреат. клейк. сух.
1. Брюшной тиф . .	4,1	5,0	7,5	8,2
2. Паратиф А . . .	13,8	5,0	8,2	11,0
3. „ В	5,8	7,5	10,0	11,0
4. *B. Danysz'a* . . .	5,0	6,2	7,9	9,6
5. Дизентер. *Shiga* .	3,3	5,4	6,7	6,2
6. Холер. вибрион .	3,3	4,1	8,2	10,0
7. Стафилококк . . .	10,0	14,2	15,8	20,0

Цифры в таблицах показывают количество микробов в миллиардах на 1 к. с. среды через 20 часов роста при температуре 37°.

гласуется также с наблюдениями Аверьянова и Шуваева, изучавших бульон Höttinger'a различной перевариваемости и отметивших, что чем глубже распад белка, чем резче реакция на триптофан, тем лучше рост засеваемых микробов.

При изучении среды для получения массовых культур микробов важно не только остановиться на определенном виде пептона, но и определить наилучшую концентрацию последнего. С этой целью нами проделан ряд опытов, наиболее интересные из которых приведены на таблицах V и IV. Из этих таблиц видно, что, работая даже с пептоном Witte с целью увеличения смыва, выгодно употреблять не один процент его, а значительно выше (2,5—3,0).

Таб. 4.

Определение роста микробов на различных пептонах (без мясной воды).

Состав среды: пептон 1% из расчета на сухое вещество, поваренной соли 0,5%, агар-агара 2,25%, реакция ρ_H 7,2 — 7,4.

Наименование микробов.	Виды пептонов.		
	Witte.	Merck.	Клейков. сухой.
1. Брюшной тиф . .	0,3	1,2	5,8
2. Паратиф А . . .	0,4	1,2	3,5
3. „ В	0,5	1,2	6,5
4. Холерн. вибрион .	0,3	3,8	4,6
5. Стафилококк . . .	1,1	4,5	15,0

Цифры в таблицах показывают количество микробов в миллиардах на 1 к. с. среды через 24 часа роста при температуре 37°.

Таб. 5.

Зависимость между ростом микробов и количеством прибавленного к среде пептона (с мясной водой).

Состав среды: пептон Witte взят сухим в различных $^0/_0$-тах, пептон мясной панкреатического переваривания жидкий взят в указанных $^0/_0$-тах, из расчета на раствор, к агару на Виттевском пептоне прибавлялась поваренная соль $0{,}5^0/_0$ с учетом содержания последней в самом пептоне. В агар с панкреатическим пептоном прибавлялся раствор питательных солей. ($MgSO_4$ — 0,25, K_2HPO_4 — 1,0 и $NaCl$ — 7,0 на литр воды). В обоих случаях бралась мясная вода в количестве $50^0/_0$ и ρ_H устанавливалось 7,2.

$^0/_0$ сух. пепт. Witte	*B. Danysz'a.*	Брюшной тиф № 20.	$^0/_0$ мясного панкр. пепт. жидкого.	*B. Danysz'a.*	Брюшной тиф № 11.
$1{,}0^0/_0$	3,4	2,5	$5^0/_0$	9,0	9,0
$1{,}4^0/_0$	4,4	2,6	$10^0/_0$	12,0	14,0
$1{,}8^0/_0$	5,2	2,9	$18^0/_0$	14,0	16,0
$2{,}2^0/_0$	5,5	3,2	$30^0/_0$	16,0	23,0
$2{,}6^0/_0$		3,5	$50^0/_0$	18,0	30,0
$3{,}0^0/_0$	5,2	4,5			

Цифры в таблицах показывают количество микробов в миллиардах на 1 к. с. среды через 22 часа роста при температуре 37°.

Наиболее высокий рост микробов получается на агаре, приготовленном на смеси равных объемов мясной воды и жидкого панкреатического пептона из мяса. При этом интенсивность роста брюшнотифозной культуры № II достигала 30 миллиардов на 1 к. с. засеянного агара. Почти такой же рост давала, как показывает таб. VI, несравненно более дешевая среда, приготовленная без мясной воды на одном мясном панкреатическом пептоне, взятом в количестве $75^0/_0$ среды.

Если сопоставить теперь этот рост, полученный на агаре с одним панкреатическим пептоном, с ростом брюшного тифа на обычном мясопептонном агаре с Witte-пептоном, то мы увидим, что пептон панкреатического переваривания дает возможность на значительно более дешевом агаре, не содержащем мясной воды, получать рост микробов превосходящий в 5—7 раз и даже выше рост их на обычном агаре.

Получение столь сильного роста микробов имеет целый ряд преимуществ в вакцинной работе: во-первых, резко удешевляет производство вакцин, ибо стоимость материалов необходимых для получения определенного количества густой эмульсии уменьшается в 20—40 раз, что является особенно важным при приготовлении кишечной вакцины; во-вторых, очень значительно увеличивается пропускная способность вакцинного отделения и, следовательно, также скорость выполнения соответствующих заказов; в-третьих, является возможность получения более густых, а отчасти, и более

Таб. 6.

Зависимость между ростом микробов и количеством пептона панкреатического переваривания (без мясной воды).

Состав среды: пептон жидкий мясной панкреатического переваривания, согласно вышеуказанной прописи в различных % в отношении общего количества среды, остальное количество вода, к которой прибавлены минер. соли, агар-агара 2%, ρ_H 7,2.

Количество жидкого панкреат. мясн. пептона.	Брюшной тиф культ. № II.	Паратиф культ. № II.	Бацилла Данича.	Холерн. вибрион.
2%	1,5	1,3	1,8	—
5%	3,0	2,5	3,5	2
10%	6,0	4,5	5,0	3,5
18%	8,0	7,5	8,0	6,0
30%	12,0	9,0	13,0	8,0
50%	18,0	15,0	16,0	10,0
75%	28,0	20,0	18,0	10,0
100%	28,0	23,0	18,0	9,0

Рост учтен в миллиардах на 1 к. с. среды после 22-часового роста.

светлых основных эмульсий микробов, и, наконец, в-четвертых, уменьшается количество потребной посуды для посевов, а вместе с тем и возможность загрязнения при работе с нею. Все эти выводы мы смогли целиком подтвердить при массовых посевах.

Однако, само собою понятно, интенсивный рост микробов лишь тогда будет иметь ценность, если полученные на этих средах микробы не будут резко менять своих биологических свойств. Нами неоднократно проверялась микроскопическая картина микробов, причем мы ни разу не констатировали в сколько-нибудь значительном количестве инволюционные формы и во всяком случае их было не больше, чем в контроле.

С целью выяснения полноценности рецепторного аппарата микробов, выращенных на средах панкреатического переваривания, приготовленных, как из белков животного, так и растительного происхождения, мы испытывали его с помощью реакции агглютинации, причем никакого отличия от контроля нами ни разу не обнаружено. Впрочем этого можно было бы ожидать и a priori, ибо панкреатические среды являются весьма подходящими для приготовления даже таких требовательных антигенов, какими являются скарлатинозные и дифтерийные токсины.

На основании приведенных данных можно прийти к следующим выводам:

1. Чем глубже расщепление белка в пептоне, чем больше аминного азота содержится в нем, тем интенсивней рост микробов на приготовленном из него агаре.

2. Для выращивания микробов не является существенным, приготовлены ли пептоны из белков растительного или животного происхождения.

3. Для массового приготовления вакцин безусловно предпочтительнее вместо пептона Witte, состоящего из начальных продуктов расщепления белка, применять пептоны панкреатического переваривания, приготовленные из белков животного или растительного происхождения. Из последних заслуживают внимания пептоны, полученные из клейковины, как по своей дешевизне, так и по простоте обработки.

В заключение приношу глубокую благодарность Н. А. Верижковскому за ценные указания при выполнении этой работы.

RÉSUMÉS.

Ynstitut Bactériologique Pasteur. Léningrad.

Application de la cellule photo-électrique à la standartisation des toxines diphtériques.

N. Andreyev et A. Rayevski.

(*Communication préliminaire*).

L'expérience a montré que l'état trouble des toxines dans le point isoélectrique déterminé à l'aide de la cellule photo-électrique est proportionné à la quantité de doses mortelles. Ce fait prouve la possibilité de la standartisation des toxines.

Ynstitut Bacteriologique Pasteur. Léningrad.

Application de la cellule photo-électrique à la standartisation des tuberculines.

N. Andreyev et M. Linnikova.

(*Communication préliminaire*).

L'état trouble des tuberculines dans leur point isoélectrique déterminé à l'aide de la cellule photo-électrique est proportionné au degré de l'effet biochimique produit par les tuberculines dans la cuti — réaction. Cela prouve la possibilité de la standartisation des tuberculines.

¡Aus dem Laboratorium des „Gostorg".

Ueber die Rolle der Mikroorganismen in der Zündholzindustrie.

L. M. Horowitz-Wlassova & G. S. Filippov.

Die sogenannte Tunkmasse, welche für die Anfertigung der Zündholzköpfchen dient, erleidet häufig eine eigenartige Zersetzung die

durch die Gasbildung und Abnahme des Bindevermögens gekennzeichnet wird. Um die sich dabei abspielenden Vorgänge die Zündbarkeit der Zündhölzchen stark herabsetzend zu erörtern, haben wir 13 Proben der verdorbenen Tunkmasse bakteriologisch untersucht; es erwies sich dabei, dass sie häufig von Mikroorganismen wimmelten — namentlich, wurden 3 Arten — *Torula glutinis, B. mesentericus vulgatus, Cephalosporium acr.* häufig von Hunderttausenden und sogar Millionen Keimen in c. c. vertreten.

Der zur Anfertigung der Tunkmasse verwendete Hautleim ergab seinerseits bei der Untersuchung mehr als 40 Arten, deren einige scheinbar eine zufällige Verunreinigung aufwiesen, andere, dagegen, wie *B. mesentericus vulgatus, B. fluorescens liquefaciens, Penicillium glaucum* sich in diesem Substrat vermehrten. Die Untersuchung des ebenfalls für die Tunkmasse verwendeten Harzes wies das Vorhandensein in diesem Substrat verschiedener Bakterien, Hefen und Pilzarten, wie *B. fluorescens liquefaciens, B. mesentericus vulgatus, Torulla glutinis, Mucor racemosus, Mucor plumbeus, Penicill. glaucum, Aspergillus niger, Rhizopus nigricans u. a.* nach. Die Infizierung der normalen Leimproben durch Zusatz von verdorbenem Leim, ebenso wie mit Reinkulturen einiger der daraus gezüchteten Arten, wie *B. mesenterisus v., B. megaterium, B. fluorescens liquefaciens* hatte dieselben Veränderungen des Leims zur Folge — namentlich, die Gasbildung, Abnahme der Viscosität und des Bindungsvermögens; dasselbe geschah bei den Infizierungsversuchen der Tunkmasse — insbesondere bei der Anwendung sporogener proteolytischer Arten, wie *B. mesentericus v.* Tatsächlich erwies sich der Zusatz zum Leim oder zur Tunkmasse verschiedener *Antiseptica*, wie *Krystallviolett* in der Dosis von 0,0006%, 0,05% Miaanin, 0,1% Chlorkalk, 0,1% $ZnSO_4$, die die Bakterienvermehrung verhinderten, zur Bekämpfung dieser Erscheinung als erfolgreich. Es geht von sich, dass diese „Erkrankung" der Zündhölzchen, wie jede Infection, auch prophylaktische Massnahmen erfordert, wie peinliche Sauberkeit bei der Anfertigung des trockenen Leims und dessen Lösungen, Reinlichkeit der Behälter, des Raumes selbst, des angewendeten Wassers usw.

Aus dem Bacteriologischen Ynstitut Pasteur. Léningrad.

Einiges über den Mechanismus des Phänomens Castellani.

M. A. Zelikina u. A. M. Benjasch.

Die Symbiose von zwei Mikrobenarten in Substrat mit Gehalt an beliebigem Zucker oder mehrwertigem Alkohol kann zu Gärung mit Gasentwickelung führen, während jede Art für sich allein unbefähigt ist, diesen Zucker oder Alkohol unter Gasentwickelung zu vergären. Diese Erscheinung wird Phänomen Castellani genannt. Verff. haben dieses Phänomen in seiner Entstehung an der Symbiose von *B. typhi* und *B. Morgani* in Mannit-Peptonwasser untersucht und kommen zu folgenden Schlussfolgerungen.

1. Das Phänomen Castellani bei Symbiose von *B. typhi* und *B. Morgani* in Mannit-Peptonwasser ist bedingt durch Aufspaltung des Mannit durch *B. typhi* unter Entstehung von Ameisensäure und nachfolgender Vergärung derselben durch *B. Morgani* unter H_2 — und CO_2 — bildung.

2. Bei nachträglicher Verimpfung von *B. Morgani* an eine Typhus-Mannit-Peptonkultur bleibt Gasbildung aus, weil das Wachstum von *B. Morgani* gehemmt wird durch die im Substrat in erforderlicher Konzentration angehäufte Ameisensäure. Die Wachstumshemmung ist dabei bedingt nicht durch den p_H — Grad, sondern durch nichtdissoziierte Säure.

3. Als Gärungssubstrat dient offenbar freie Ameisensäure und nicht ihre Salze.

4. Die Aufspaltung des Mannit durch die Typhuskultur ist quantitativ vollkommener bei Symbiose, als bei isoliertem Wachstum des Typhusbazillus in demselben Substrat.

Aus dem Bacteriologischen Ynstitut Pasteur. Leningrad.

Ueber Variabilität mancher Vertreter der Coligruppe.

Sophie Kasarnowsky, M. I. Kanjewsky, M. A. Zelikina u. E. T. Pawlowa.

Indem 3 Kulturen *B. dysenteriae acidific.* und 1 *Kultur B. coli com.* mit entsprechenden Bakteriophagen in Wechselwirkung gebracht waren, resultierten schleimige Varianten aller 4 Kulturen und nicht — schleimige laktosedefektive Colivarianten. Die schleimigen Varianten sind durchweg biochemisch unactif und auch serologisch unbeeinflussbar durch das Serum der Urstämme, dagegen agglutinierbar durch homologes spezifisches „schleimiges" Serum. Verff. untersuchten 2 schleimige Varianten von *B. dysent. acidific.*, sowie 1 schleimige und I nichtschleimige (laktodefekt.) Colivarianten. Aus der serologischen Analyse der Rezeptorenapparates der Varianten geht hervor, dass ihre Unbeeinflussbarkeit durch das Serum in hohen Grade durch hemmende Auswirkung des Schleimes selbst auf die Agglutinationsreaktion bedingt ist. Weiterhin konnte festgestellt werden, dass diese Auswirkung spezifisch ist, indem das Muzin der Colivarianten die Agglutination der entsprechenden Stämme durch Coliserum hemmt, ohne die Reaction zwischen Dysenterie — oder Typhusserum und den entsprechenden Ausgangstämmen zu beeinflussen. Zur gleichen Zeit jedoch hemmt das Muzin der *Colivarianten* die Agglutination der *Acidifikantvarianten* durch die spezifischen Seren und umgekehrt.

Mit allen Varianten wurden Kaninchen immunisiert. Die gewonnenen Seren und die Seren der Urstämme benutzten Verff. zu serologischer Analyse nach Castellani mit dem Ergebnis, dass für alle Varianten das Bestehen eines komplementären Rezeptors nachgewiesen wurde, neben dem von den Urstämmen überkommenen.

Der genetische Zusammenhang aller Varianten mit den Urstämmen ergibt sich aus der Restitution bei den ersteren der typischen Grundqualitäten.

Aus dem 1-en Ukrainisch. Sanit.-Bakteriol. Institut und Kreis-Militär-Veterinärlabor. U.W.O. Kharkoff.

Ueber Schutzimpfung gegen die Pferdedruse.

L. L. Kandiba und I. Ja. Sadowsky.

Die subcutane Einverleibung von Kulturen des Drüsenstreptococcus von empfindlichen Fohlen erzeugt nur locale Prozesse, die als Abscessen oder Phlegmonen, aber nicht als Drüse in Erscheinung treten.

Bei Fohlen, die locale Prozesse nach subcutaner Impfung des Drüsenstreptococcus durchgemacht hatten sich solche aktive Immunität gegen die Pferdedrüse ausbildet, die man nur unter Bedingungen der natürlichen Kontactinfection weisen kann. Der Immunitätsgrad ist dabei vom Character der lokalen Reaction bedingt und gleicht bei phlegmonosem Reactionstypus der Unempfindlichkeit, wie nach natürlicher Infection (gegen massive experimentelle Infizierung).

Die Immunisationsmethode gegen die Pferdedrüse behufs der subcutanen Einverleibung des lebenden Virus (Steptococcus) bei provisorischer dermalijer Desensibilisierung mit Antivirus (zwecks Beseitigung oder Linderung der localen Erscheinungen) hat dennoch keine praktische Bedeutung, da, unbeachtet seiner Activität, keine Sicherung der Ungefährlichkeit der Methode gibt.

Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Krankenhauses Botkin.

Ein Beitrag zur Kenntnis der Mannit nichtvergährenden Dysentheriestäbchen.

M. Rapoport, A. Daumann und A. Weintraub.

Bei einer Dysenterieepidemie in Leningrad (1923) wurde von M. Rapoport ein Dysenteriestäbchen beschrieben, das nur bei Colitisfällen zu finden war und kulturell zu der Gruppe des *Schmitzbazillus* zu gehören schien, dagegen agglutinatorisch von diesem und anderen Dysenteriebazillen sich streng trennen liess.

Bei Ueberprüfung einiger alter Laboratoriumskulturen im Jahre 1927 hat sich herausgestellt, dass diese im Gegensatz zu den ursprünglichen Befunden auf Glukosenährböden schwaches Gasbildungsvermögen aufwiesen und Neutralrot reduzierten.

Es hatte somit den Anschein, dass diese Stämme zu der von Ornstein beschriebenen Gruppe des *B. insonstans* zuzurechnen seien.

Eingehende vergleichende Untersuchungen mit einigen *B. inconstanzstämmen*, *B. fallax* und *B. Schmitz* führten aber zu ganz abweichenden Befunden.

Nach den wiederholten Plattenpassagen gelang es nachzuweisen, dass man es mit Stämmen zweierlei Art zu tun hat: mit solchen, die Glukose nur unter Säurebildung angreifen („Gas —“ Gruppe genannt) und mit solchen, die auf Glukose Gasbildung zeigen (“Gas +“ Gruppe).

Es sei dabei hervorgehoben, dass auch die vergasenden Stämme („Gas +“) auf Glukosenährböden nur bei reichlicher Beimpfung und

zwar bei $p_H = 7{,}4 - 7{,}6$ (und nicht etwa bei $p_H = 7{,}0$) Gasbildungsvermögen aufwiesen.

In Bezug auf den Neutralrotnährböden liessen sich die Stämme insofern von einander unterscheiden, als diejenigen der „Gas—" Gruppe auf den Nährböden mit 1% — Glukoseinhalt während der ersten 2—3 Tage (bei 37°) sich wie *B. fallax* verhielten, d. h. nur eine starke Säurebildung, aber keine Reduktion aufwiesen. Diese machte sich erst nach 4—5 Tagen bemerkbar. Dagegen tritt bei den Stämmen der „Gas +" Gruppe schon etwa nach 28 Stunden eine starke Fluorescenz ein.

Auf Neutralrotpeptonwasser mit Durhamröhrchen zeigten beide Gruppen („Gas +" und „Gas—") eine gleiche Fluorescenz.

In Anlehnung an die Arbeit von Geilinger und Schweizer (1923) wurden die Versuche mit Neutralrotnährböden fortgesetzt und zur vergleichenden Untersuchung auch andere Kulturen herangezogen: mehrere Stämme *B. coli comm.*, Vertreter der paratyphösen Gruppe, Stamm *Bac. B. para-Rhisum-Sohn* (1913 von Wagner in faeces eines paratyphösen Kranken nachgewiesen) und endlich ein Stamm sogenannt „G" (1926 von Wiktoroff in Moskau im Blute von Typhuskranken gefunden = gasloser *Gärtner*).

Die beiden letztgenannten Stämme waren insofern vom Interesse, als sie auf Glukosenährboden kein Gasbildungsvermögen zu besitzen schienen. Erst auf Grund eingehender und mühevoller Untersuchungen gelang es Klieneberger (1927) bei *B. para-Rhisum-Sohn* eine ganz schwache Gasbildung zu beobachten.

Es lag nahe zu untersuchen ob in Bezug auf das Gasbildungsvermögen dieser beiden Stämme eine ev. Neutralrotreduktion, Aufschluss geben könnte.

Die Versuche auf Neutralrotfleischbrühe bezw. — fleischbrüheagar einerseits und Neutralrotpeptonwasser andererseits haben folgendes ergeben.

Colistämme, die Stämme des *B. inconstans*, die paratyphösen Mikroben, *B. para-Rhisum-Sohn* und *B. „C"* wiesen Reduktion nur in zuckerhaltigen, bezw. fleischbrühehaltigen Nährböden auf. Also im allgemeinen in den Nährböden, die „gärbare Substanzen" im Sinne von Geilinger und Schweizer enthielten.

Demgegenüber bewirkten die Stäbchen aus der Gruppe „Gas+" und „Gas—" und ein Stamm *B. coli* (aus dem Herzblut einer gefallenen Maus gezüchtet), auch auf Peptonwasser, also in einem von „gärbaren Substanzen" freien Nährboden eine deutliche Fluorescenz.

Man dürfte demnach die Neutralrotreduzierenden Bakterien nach den obigen Ergebnissen in zwei Gruppen einteilen.

Dieses Verhalten lässt sich auch differentialdiagnostisch verwerten. Diese Ergebnisse wären auch insofern vom Interesse, als bei den Bakterien der ersten Gruppe das Neutralrot, als ein sehr empfindlicher Indikator für eine vor sich gehende wenn auch ganz schwache Wasserstoffbildung, folglich auch für eine wenn auch nur potentielle Vergasungsfähigkeit in Betracht zu kommen. Demgemäss wären also auch *B. para-Rhisum-Sohn* und *Bac. „G"*, als schwache Gasbildner zu betrachten.

In Bezug auf Saccharosevergärung verhielten sich die untersuchten Stämme im Gegensatz zur Gruppe des *B. inconstans* und *B. fallax* weniger konstant.

Vergleichende Untersuchungen über das agglutinatorische Verhalten der untersuchten Stämme und der *inconstans-fallax-Kulturen* führten zu folgenden Ergebnissen.

Serologisch sind die Stämme „Gas +" und „Gas —", identisch.

Bei der Kreuzagglutination sind sowohl die Stämme „Gas —", wie auch die „Gas +" Stämme vom *B. fallax* nicht zu unterscheiden.

Die Absättigungsversuche nach Castellani haben dagegen gezeigt, dass die beschriebenen Stämme einen mit *B. fallax* gemeinsamen Hauptrezeptor und je einen für jeden Stamm spezifischen Nebenrezeptor besitzen.

Du Laboratoire Bactériologique de l'Institut Sanitaire Bactériologique de Tchernigov

Sur les modifications morpholgiques des microbes et de leurs cultures sous l'influence de la bactériophagie.

B. Foursenko.

Les modifications morphologiques des microbes et de leurs cultures sous l'influence de la bactériophagie sont semblables en somme à celles qu'on peut provoquer artificiellement à l'aide d'agents chimiques et physiques ou par la sélection des formes qui s'écartent de la norme. Ce qui caractérise la bactériophagie ce sont les taches vierges et les colonies du type *„Flatterformen"*. Cependant les unes et les autres peuvent apparaître aussi spontanément et ne sont pas toujours capables de contaminer les cultures normales. Ce fait diminue leur portée pour le diagnostic de la bactériophagie. Vu toutes ces conditions il faut reconnaître que seuls l'ensemble des modifications morphologiques, leur constance, la rapidité de leur apparition sous l'action du principe bactériophage peuvent être considérés comme caractéristiques à la bactériophagie.

a) On peut voir à l'oeil nu les manifestations les plus éclatantes de la bactériophagie telles que: a) Clarification des cultures troublant le bouillon dans les conditions normales.

b) Formation des flocons par les cultures qui dans les conditions normales troublent également le bouillon.

c) Apparition des taches vierges dans les cultures d'agar.

d) Apparition des colonies muqueuses filantes et vitreuses (bacilles typhiques, bacilles intestinaux et autres).

e) Formation par le groupe de bâtonnets intestinaux des colonies pareilles à celles d'anthrax.

f) Formation des colonies du type *„Flatterformen"*.

j) Formation par les bâtonnets des colonies pareilles à celles de coccus.

Les modifications morphologigues moins intenses provoquées par la bactériophagie peuvent être constatées seulement au microscope. Ce sont:

A) Colonies à plis de bâtonnets de *Shiga*, de bâtonnets intestinaux.

B) Formes anormales des microbes: allongés en fil, régulièrement renflés, cocciformes, sphériques, ayant la forme d'un coin, de bâtonnets et de fils avec des renflements en forme de cornue.

C) Parties granuleuses chez les formes ne produisant pas de spores.

D) Formation des capsules.

F) Modification de la structure chimique du protoplasme se manifes tant entre autres, par la coloration métachromatique des bactéries.

L'étude des modifications morphologiques dans les microbes contaminés par le bactériophage ne confirme pas la supposition émise par d'Hérelle que l'ultra — microbe bactériofhage s'introduit dans la bactérie, s'y multiplie et se dégage après l' éclatement de l'enveloppe de la bactérie. Au contraire la formation des capsules sous l'influence de la bactériophagie, prouve plutôt que la localisation de l'agent bactériophage et sa multiplication, se trouvent dans un certain rapport avec ces éléments de la cellule bactérienne. On peut supposer que sous l'influence des substances actives de la bactériophagie les enveloppes des bactéries se couvrent de mucus ce qui amène la formation des capsules dans lesquelles ces substances trouvent les conditions propices à leur existence et à leur multiplication. La substance soluble recouverte de mucus enrichit en principe bactériophage le substrat qui entoure les bactéries, tandis que celle qui reste dans les capsules des bactéries non lysées sert à conserver le principe et à le transmettre aux enveloppes des individus plus sensibles. Les modifications morphologiques provoquées par la bactériophagie sont suffisantes dans leur ensemble pour distinguer ce phénomène des autres lésions des bactéries causées par certains agents chimiques et physiques, mais elles ne permettent pas encore de se prononcer sur la cause de la bactériophagie. Il faut chercher d'autres voies pour savoir s'il existe un ultra-microbe bactériophage ou un ferment qui se transmet par passages.

Aus dem Krim. San. Bakteriol. Institut. Sebastopol.

Peptone und deren Bedeutung bei Massenvorbereitung von Vakzinen.

N. G. Stscherbina.

Je tiefer der Abbau des Eiweisses im Pepton ist, je mehr er Amin-Stickstoff enthält, desto höher ist das Wachstum der gesäten Mikroben auf dem aus diesem Pepton vorbereiteten Agar.

Zum Aufziehen der Mikroben ist gleichgültig ob die Peptone aus vegetalischem oder animalischem Eiweiss zubereitet sind.

Zur Massenbereitung der Vakzinen ist unbedingt vorzuziehen statt des Peptons Witte, welcher aus den Grundprodukten des Eiweissabbaues besteht, die Peptone der pankreatischen Verdauung anzuwenden, welche vom animalischen oder vegetalischen Eiweiss stammen- Von den Letzteren verdienen die Peptone welche vom Pflanzenleimstoffe erhalten sind, besondere Aufmerksamkeit ebenso ihrer Billigkeit, wie auch der Einfachheit ihrer Bearbeitung wegen.